Aus der Abteilung für Experimentelle Pathologie der
Boehringer Ingelheim KG
Ingelheim/Rhein

Histologische Untersuchungen über lichtinduzierte und altersbedingte Veränderungen an der Netzhaut albinotischer und pigmentierter Ratten.

I N A U G U R A L D I S S E R A T I O N

zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin
der Johannes Gutenberg - Universität Mainz

dem Fachbereich Medizin vorgelegt
von Hubert Strunck
aus Bad Kreuznach

Mainz 1985

Aus der Abteilung für Experimentelle Pathologie der
Boehringer Ingelheim KG
Ingelheim/Rhein

Histologische Untersuchungen über lichtinduzierte und altersbedingte Veränderungen an der Netzhaut albinotischer und pigmentierter Ratten.

I N A U G U R A L D I S S E R A T I O N

zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin
der Johannes Gutenberg - Universität Mainz

dem Fachbereich Medizin vorgelegt
von Hubert Strunck
aus Bad Kreuznach

Mainz 1985

Dekan: Prof. Dr. med. J. Michaelis

1. Gutachter: Prof. Dr. med. H. Stötzer

2. Gutachter: Prof. Dr. med. R. Wagner

Tag der Promotion: 19.11.1985

Seite

1. Einleitung

Bei der toxikologischen Prüfung von Arzneimittelwirkstoffen muß immer wieder die Frage erörtert werden, welche Veränderungen im Verlaufe dieser Langzeitversuche umweltbedingt, welche altersbedingt und welche wirkungsspezifisch für die zu prüfende Substanz sind.

Früher war bezüglich der Rattenretina diese Frage nicht mit hinreichender Sicherheit zu klären, solange die Tiere bei für menschliche Augen normalen Lichtverhältnissen gehalten wurden. Thermische Netzhautschäden durch Lichteinwirkung beim Tier sind bereits seit mehr als 100 Jahren bekannt und wissenschaftlich untersucht. CZERNY (1867) beschrieb den Untergang der äußeren Netzhautschichten, eine Quellung des Pigmentepithels sowie Blutungen in der Choriokapillaris an 10 verschiedenen Tierarten, die er mit Sonnenlicht geblendet hatte. WIDMARK (1892) beschrieb am Kaninchenauge nach Einwirkung der elektrischen Bogenlampe Veränderungen, die denen der Sonnenblendung des menschlichen Auges vergleichbar waren. Er vermutete bereits damals, daß es neben thermischen Netzhautschäden auch Retinaveränderungen anderer Art geben müsse, nachdem er Versuche mit gefiltertem Licht durchgeführt hatte. Blaues Licht schien in dieser Hinsicht eine höhere Effektivität zu besitzen.

Erst seit 20 Jahren gibt es grundlegende Untersuchungen über lichtinduzierte Retinaveränderungen im Sinne einer photodynamischen Schädigung nach Einwirkung mäßiger bis hoher Lichtintensitäten. Offensichtlich reagiert das Auge der Ratte, eines nachtaktiven Tieres, sehr empfindlich auf die Einwirkung hellen Lichtes. Auch an anderen Tierarten (Schwein, Huhn, Hamster, Maus) wurden entsprechende

Untersuchungen durchgeführt (SISSON et al. 1970, LAUBER et al. 1961, NOELL et al. 1971). In einigen Experimenten dienten auch Affen als Versuchstiere (FRIEDMAN et al. 1968, TSO 1973, HOCHHEIMER et al. 1979).

NOELL und Mitarbeiter konnten 1966 erstmals nachweisen, daß es nach Kurzzeiteinwirkung intensiver Beleuchtung mit künstlichem Licht (1500 - 2500 Lux) sowohl bei Albinoratten als auch bei pigmentierten Ratten zu einer Degeneration der Photorezeptoren, zu einer partiellen gegebenenfalls auch vollständigen Zerstörung der äußeren Körnerschicht sowie zu Veränderungen des Pigmentepithels kam. Das Ausmaß des Schadens schien zudem abhängig von Intervalldauer und Frequenz der Hell-Dunkel-Exposition, der Expositionsdauer, der Beleuchtungsstärke und der Wellenlänge des einwirkenden Lichtes sowie von der Körpertemperatur der Versuchstiere. In den folgenden Jahren wurden diese Befunde durch Untersuchungen mehrerer Arbeitsgruppen bestätigt und durch neue Erkenntnisse erweitert (u.a. GORN und KUWABARA 1967, GRIGNOLO et al. 1969, STÖTZER et al. 1970, HANSSON 1970).

Aufgrund der bisher vorliegenden Untersuchungsergebnisse ergibt sich derzeit folgender Kenntnisstand:
Schweregrad, Häufigkeit und zeitlicher Ablauf der lichtinduzierten Degeneration des I. und II. Neurons der Rattenretina werden durch folgende Faktoren beeinflußt:

1. Beleuchtungsstärke
2. Dauer der Lichtexposition
3. Spektrale Zusammensetzung des Lichtes (Bleichkraft des Lichtes)
4. Körpertemperatur der Versuchstiere
5. Alter der Tiere
6. Vitamin A - Gehalt des Futters
7. Langzeitadaptationszustand des Rattenauges.

Die Beleuchtungsstärke scheint bei diesen Faktoren die wichtigste Rolle zu spielen (KUWABARA und GORN 1968, GRIGNOLO et al. 1969, STÖTZER et al. 1970, O'STEEN und ANDERSON 1971, WALZER et al. 1974). Mit zunehmender Stärke der Beleuchtung kommt es häufiger zur Schädigung des I. Neurons der Rattenretina, das Ausmaß des Lichtschadens ist stärker und die Veränderungen an der Netzhaut laufen schneller ab.

Aber nicht nur die Beleuchtungsstärke sondern auch die Expositionsdauer (somit die "Gesamtdosis" des einwirkenden Lichtes) hat einen großen Einfluß auf den zu beobachtenden Retinaschaden. Mit zunehmender Expositionsdauer ist die lichtinduzierte Degeneration der Photorezeptoren bei der Ratte stärker ausgeprägt, kommt häufiger vor und kann auch mit geringeren Lichtintensitäten erreicht werden (NOELL et al. 1966, KUWABARA und GORN 1968, O'STEEN und ANDERSON 1971, WALZER et al. 1974, WEISSE et al. 1974).

Der festgestellte Lichtschaden ist weiterhin abhängig von der spektralen Zusammensetzung des verwendeten Lichtes. In der bereits zitierten Arbeit von NOELL und Mitarbeitern (1966) wird bei der Einwirkung von Kunstlicht unterschiedlicher Wellenlänge trotz gleicher Bestrahlungsstärke ("irradiance" in mW/cm^2) ein ebenso unterschiedlich schädigender Effekt an der Retina beschrieben. Nach einer Bestrahlung der Netzhaut von Albinoratten mit grünem (Wellenlänge 530 nm) und blauem (445 nm) Licht fand sich im Elektroretinogramm eine irreversible Reduktion der a - und b - Wellen, während rotes Licht (600 nm) derartige ERG - Veränderungen nicht bewirkte. ANDERSON et al. (1972) kamen zu ähnlichen Ergebnissen. Nach Ansicht der genannten Autoren sind die

hochenergetischen Wellenlängen des sichtbaren Lichtes in erster Linie für die lichtinduzierten Retinaschäden verantwortlich. Es besteht diesbezüglich ein Zusammenhang mit der Bleichkraft des Lichtes (GORN und KUWABARA 1967).

Als weitere Einflußgröße für den retinalen Lichtschaden der Ratte wurde die Körpertemperatur der Versuchstiere erkannt. Bereits eine Erhöhung der Körpertemperatur von 38,4° C auf 40,4° C beschleunigte den irreversiblen Verlust des ERG (NOELL et al. 1966).

Hinsichtlich der Abhängigkeit des retinalen Lichtschadens vom Alter der Versuchstiere gibt es in der Literatur gegensätzliche Aussagen. Ohne genaue Altersangaben beschreiben KUWABARA und GORN (1968) einen schwereren retinalen Lichtschaden bei jüngeren Tieren, während KUWABARA und FUNAHASHI (1976) von einem weniger ausgeprägten Lichtschaden bei jungen Ratten im elektronenmikroskopischen Bild berichten. BALLOWITZ und DÄMMRICH (1972) erklären das geringere Schadensmaß an der Netzhaut junger Ratten mit der Einwirkung einer geringeren Lichtdosis am Schädigungsort (in den ersten 9 Lebenstagen noch geschlossene Augenlider, Jungtiere liegen häufiger unter dem Muttertier).

Daß ein Vitamin A - Mangel gegen einen lichtinduzierten Rezeptorenzellschaden der Netzhaut schützen kann, wird von NOELL und ALBRECHT (1971) berichtet. Ebenso beobachteten STÖTZER et al. (1970) einen deutlich geringer ausgeprägten Lichtschaden bei weiblichen Ratten, die unter Vitamin A - Mangel - Bedingungen gehalten wurden.

Schließlich soll noch der sogenannte Langzeitadaptationszustand der Sinneszellen erwähnt werden. O'STEEN und Mit-

arbeiter (1974) berichten, daß die einer Dauerbeleuchtung exponierten Ratten schwere degenerative Netzhautveränderungen erkennen ließen, die bei den unter cyklischer Beleuchtung gehaltenen Tieren nicht zu verzeichnen waren. NOELL (1980) erwähnt einen stärkeren retinalen Lichtschaden bei den Tieren, die vor Versuchsbeginn in konstanter Dunkelheit gehalten wurden. HAYASAKA und LAI (1979) beobachteten bei den unter Dauerbeleuchtung gehaltenen Versuchstieren einen Aktivitätsanstieg der sauren Phosphatase und der ß-Glucuronidase in der Retina, während bei cyklischer Beleuchtung ein Enzymanstieg nicht zu verzeichnen war.

Im Gegensatz zu den zahlreichen Mitteilungen über den lichtinduzierten Retinaschaden liegen bisher nur wenige Untersuchungsergebnisse hinsichtlich der altersbedingten Retinaveränderungen des Rattenauges vor. WEISSE et al. (1973) beschrieben bei alten Albinoratten eine Rarefizierung der Kerne der äußeren Körnerschicht um 35,7 % sowie eine gleichzeitige Abnahme der Kernzahl der inneren Körnerschicht um 26,9 %. LAI et al. (1978) fanden eine mit zunehmendem Alter fortschreitende Abnahme der Photorezeptorzellen bei Fischer-Ratten (Albinos), wobei die Retinaperipherie bevorzugt betroffen schien. Eine stärkere Abnahme der Zellzahl ließen allerdings die bei einer höheren Beleuchtungsstärke gehaltenen Tiere (340 Lux) erkennen, was möglicherweise auf einen zusätzlichen Lichteinfluß hinweist, zumal auch Veränderungen beschrieben werden, die aufgrund eigener Beobachtungen eher dem lichtinduzierten Schadensbild zuzuordnen wären.

In der vorliegenden Untersuchung wurden albinotische und pigmentierte Ratten identischen Umweltbedingungen ausgesetzt. Anhand definierter Beleuchtungsintensitäten

sollten der lichtinduzierte Retinaschaden und die altersabhängigen Netzhautveränderungen reproduziert werden. Mit der Untersuchung der Tiere zu unterschiedlichen Zeitpunkten sollte folgenden Fragen nachgegangen werden:

1. Durch welche pathomorphologischen Kriterien ist der zeitliche Ablauf des Lichtschadens gekennzeichnet?
2. Zu welchem Zeitpunkt sind Altersveränderungen an der Retina feststellbar?
3. Wie stellen sich diese Altersveränderungen dar?
4. Bestehen in der Reaktionsweise der Retinae Unterschiede zwischen Albinoratten und pigmentierten Tieren?

2. Material und Methode

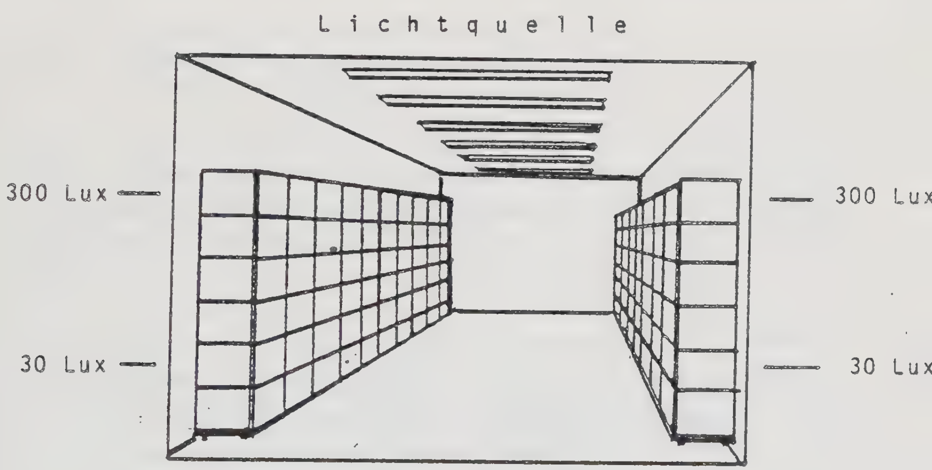
2.1. Anzahl und Haltung der Versuchstiere

Insgesamt wurden bei diesem bis zu 78 Wochen dauernden Versuch 304 Ratten (150 männliche, 154 weibliche Tiere) eingesetzt. Sowohl für den Lichtversuch als auch für den Altersversuch wurden Albinoratten des Stammes CHBB:THOM (SPF) und pigmentierte Tiere des Stammes BDE/Hannover-schwarz-hooded verwendet. Die Ratten waren zu Versuchsbeginn 8 Wochen alt. Die Tiere wurden bei einer konstanten Umgebungstemperatur von 22° C und einer relativen Luftfeuchte von 55 % unter SPF - Bedingungen in einem geschlossenen System gehalten. Standarddiät und Trinkwasser standen frei zur Verfügung. Alle Tiere waren in einem einzigen fensterlosen Raum untergebracht. Jeweils 2 Tiere wurden in einem Makrolonkäfig Typ III gehalten. Die Käfige waren an gegenüberliegenden Wandseiten in 2 Etagen angeordnet. Bei den in beiden Versuchen eingesetzten Tieren handelt es sich in der Hälfte der Fälle um Tiere, denen eine Wirksubstanz verabfolgt wurde, die restlichen Tiere dienten Kontrollzwecken. Im Vortest wurde jedoch zwischen behandelten und unbehandelten Tieren kein statistischer Unterschied festgestellt, so daß beide Gruppen zusammengefaßt betrachtet werden können.

2.2. Art der Beleuchtung und der Beleuchtungsstärke

Der Raum wurde während der gesamten Versuchsdauer konstant mit 6 Osram-Leuchtstoffröhren Typ universal weiß à 40 Watt beleuchtet. Die Abstufung der Beleuchtungsstärke wurde durch die Anordnung der Käfige in 6 Etagen erreicht, wobei die zweite Etage von unten sowie die oberste Käfigetage mit Tieren besetzt waren. Die Be-

leuchtungsstärke wurde regelmäßig mit einem Standardluxmeter kontrolliert. Die Tiere der obersten Käfigetage dienten dem Lichtversuch (Beleuchtungsstärke 300 lux - Versuchsdauer bis 26 Wochen), die Ratten der unteren Etage wurden für den Altersversuch verwendet (Beleuchtungsstärke 30 lux - Versuchsdauer bis 78 Wochen).



Skizze von der Anordnung der Tierkäfige im Versuchsraum

Für den Lichtversuch wurden 143 Tiere (71 m, 72 f) für den Altersversuch wurden 161 Ratten (79 m, 82 f) benötigt. Die Stärke der einzelnen Tiergruppen sowie die Zeitpunkte der Tierentnahmen sind den Tabellen 1 und 2 zu entnehmen.

2.3. Histologische Untersuchungen

Die für die einzelnen Untersuchungszeitpunkte bestimmten Augen wurden nach Fixation in Susa-Löslung histologisch aufgearbeitet. Folgende Färbungen wurden angewendet: Haematoxylin-Eosin, Trichromfärbung nach Masson-Goldner, PAS-Reaktion nach Schüller und die Berliner Blau-Färbung.

2.4. Methodik der Kernzählungen

Von 80 Tieren des Altersversuches (je Tier ein Auge) erfolgte neben der lichtmikroskopischen Diagnostik eine quantitative Auswertung der äußeren und der inneren Körnerschicht der Retina. Die Auswahl der Tiere erfolgte nach folgenden Kriterien:

1. Ein möglichst balanciertes Zahlenverhältnis zwischen männlichen und weiblichen Tieren und zwischen albinotischen und pigmentierten Ratten innerhalb jeder Untersuchungsgruppe war anzustreben.
2. Die histologischen Präparate mußten möglichst in der gleichen Ebene geschnitten sein (einheitliche Schnittgeometrie).
3. Die Netzhaut sollte in ihrer gesamten Ausdehnung zu beurteilen sein.

Es wurde bei 700-facher Vergrößerung unter Verwendung eines Rasters definierter Größe an korrespondierenden Netzhautabschnitten gemessen, wobei als Hilfsmittel das Gerät MOP/03 (Fa. Kontron) zur Verfügung stand.
Von jeder Retina wurden unter Einhaltung einer konstanten Meßgeometrie folgende Parameter bestimmt:

1. Die Anzahl der Zellkerne der äußeren Körnerschicht im zentralen Fundus (eine Rasterbreite neben der Papille)
2. Die Anzahl der Kerne der äußeren Körnerschicht in der Fundusperipherie (beginnend an der Ora serrata)
3. Die Anzahl der Zellkerne der inneren Körnerschicht im zentralen Fundus
4. Die Anzahl der Kerne der inneren Körnerschicht in der Fundusperipherie

Die Ergebnisse der Auszählungen sind in den Graphiken und Tabellen als arithmetische Mittelwerte ($\bar{x}$) und Standardabweichungen widergegeben.

2.5. Biometrische Auswertung der Zählergebnisse *

Die biometrische Auswertung erfolgte für jeden der o.g. Parameter mit einer univariaten 3-Wege-Varianzanalyse, wobei die Stämme, die Geschlechter und das Alter die Faktoren darstellen. Die Faktoren Stamm und Geschlecht umfassen je 2 Stufen, während das Alter in 4 Stufen vorkommt. Insgesamt wurden 80 Tiere untersucht, die einzelne Zelle war mit 5 Individuen besetzt. Für die Altersgruppen wurde die Prüfung der Mittelwertsdifferenz mit dem Newman-Keuls - Test vorgenommen.

* Für die Hilfe bei der biometrischen Auswertung danke ich Herrn Dr. Knappen aus der Abteilung Datenverarbeitung der Boehringer Ingelheim KG.

2.6. Tabellen zur Gruppeneinteilung der Tiere

Tabelle 1 Lichtversuch / 300 lux Dauerbeleuchtung

Zeit	Tiergruppen			
	Albinoratten		Haubenratten	
	m	f	m	f
Tag 4	4	4	4	4
Tag 8	4	4	4	4
Tag 14	4	4	4	4
Tag 30	4	4	4	4
Woche 13	10	10	10	10
Woche 26	10	10	9	10
Total	36	36	35	36

Tabelle 2 Altersversuch / 30 lux Dauerbeleuchtung

Lebens-alter	Tiergruppen			
	Albinoratten		Haubenratten	
	m	f	m	f
Woche 21	10	10	9	10
Woche 34	10	10	10	10
Woche 60	10	10	10	10
Woche 86	11	15	9	7
Total	41	45	38	37

3. ERGEBNISSE

3.1. Die Struktur der normalen Rattenretina

Aus Vergleichsgründen soll zunächst die Struktur der normalen Rattenretina vorgestellt werden.
Nach MERTE (1958 besteht die Netzhaut der Ratte ebenso wie die menschliche aus 10 Schichten und hat eine durchschnittliche Dicke von 208 µ. Das der Bruchschen Membran anliegende Pigmentepithel besteht aus einer einzigen Zellage von etwa 30 µ großen Zellen, die bei albinotischen Tieren keine Melaningranula enthalten. Die Photorezeptoren werden nahezu ausschließlich von Stäbchen repräsentiert. Zapfen konnten bisher - wie auch in der vorliegenden Untersuchung - nicht eindeutig nachgewiesen werden, werden jedoch von manchen Autoren vermutet (CICERONE 1976).
Die Lamina limitans externa trennt die Photorezeptoren von der äußeren Körnerschicht. Diese in 8 - 12 Lagen angeordneten Kerne stellen die Perikarya der Photorezeptoren dar. Kerne sowie Außen- und Innensegmente der Photorezeptoren bilden zusammen das I. retinale Neuron. Nach innen folgt die sehr dünne äußere plexiforme Schicht, an die sich die aus durchschnittlich 4 Kernlagen bestehende innere Körnerschicht anschließt. Die innere Körnerschicht beherbergt bipolare Ganglienzellen, amakrine Zellen, Horizontalzellen sowie Kerne der Müllerschen Stützzellen. Die bipolaren Ganglienzellen mit ihren Dendriten (äußere plexiforme Schicht) und Neuriten (innere plexiforme Schicht) stellen das II. Neuron der Retina dar. Nach innen folgen die Ganglienzellschicht und die Nervenfaserschicht (III. Neuron der Retina) sowie die Lamina limitans interna.

Die Blutversorgung der inneren Retinaschichten erfolgt über eine Zentralarterie, die sich auf der Papille in 6 - 7 radiäre Äste aufteilt. Neuroepithel und Pigmentepithel sind ebenso wie bei den übrigen Säugetieren avasculär und werden per diffusionem von der Choriokapillaris ernährt. Die nach außen sich anschließende Aderhaut ist durch ihren Gefäßreichtum gekennzeichnet. Melanin läßt sich bei albinotischen Tieren im Gegensatz zu pigmentierten Tieren nicht nachweisen (vgl. Abb. 1).

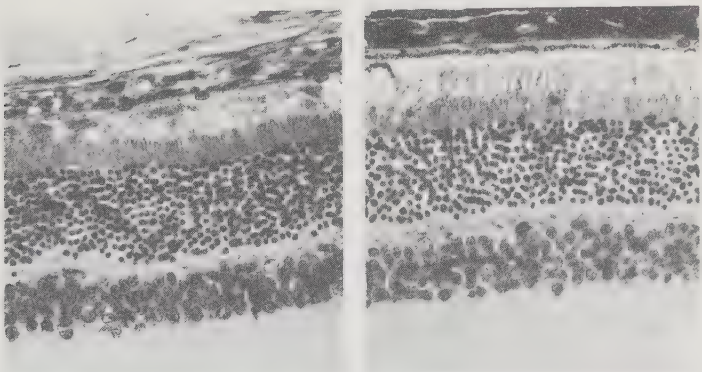


Abb. 1:

Papillennahe Abschnitte normaler Retinae.
Links Albinoratte, rechts Haubenratte.
Melaningranula im Pigmentepithel sowie Melanineinlagerung in der Chorioidea bei der pigmentierten Ratte.
Masson-Goldner, 360 X
(Ganglienzellschicht und Nervenfaserschicht nicht abgebildet)

3.2. Ergebnis des Lichtversuches (300 Lux)

3.2.1. Lichtinduzierte Retinaveränderungen nach 4 Tagen Dauerbeleuchtung

Albinoratten:

Im feingeweblichen Bild fällt eine nahezu vollständige Destruktion besonders der Außenglieder der Photorezeptoren auf. Im Bereich der Stäbchenschicht liegt amorpher Zelldetritus durchsetzt mit Makrophagen. Die äußere Körnerschicht ist auf 5 - 6 Kernlagen reduziert; die Mehrzahl der Kerne ist pyknotisch. Fokal oder multifokal besteht ein totaler Verlust der äußeren Körnerschicht mit gleichzeitiger Ruptur der Lamina limitans externa. Nur in der äußeren Retinaperipherie hat das I. Neuron noch seine ursprüngliche Struktur.
Das Pigmentepithel ist in seiner Kontinuität erhalten; die Zellen erscheinen jedoch vergrößert. Wo fokal ein totaler Verlust des I. Neurons vorliegt, fehlt auch das Pigmentepithel. Ebenso wie die Schichten des II. und III. retinalen Neurons ist die Bruchsche Membran in allen Fällen intakt (vgl. Abb. 2).
In der Aderhaut finden sich bei 7 von 8 Tieren mehrere eosinophile Granulocyten und mononukleäre Zellen. Ebenso fallen mononukläre Zellen im vitreo-retinalen Grenzbereich, im Glaskörper, in der Vorderkammer, dem Kammerwinkel und der Iris auf.
Art und Ausmaß des retinalen Schadens sind in allen Fällen binokulär und graduell nahezu gleichartig ausgeprägt.

Pigmentierte Ratten:

Bis auf eine fokale Retinadysplasie bei einem weiblichen Tier sind die Retinae der übrigen Tiere in Anordnung und Struktur unauffällig. Das dysplastische Areal ist durch eine fokale Invagination des Neuroepithels in die Schichten des II. und III. retinalen Neurons gekennzeichnet (vgl. Abb. 3).

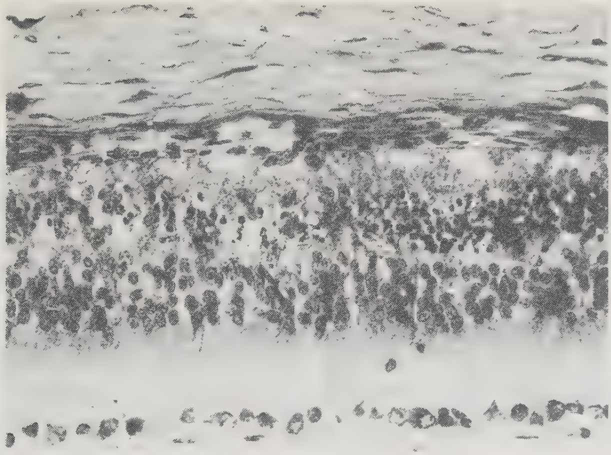


Abb. 2:

4 Tage Dauerbeleuchtung (300 Lux)
Zentraler Netzhautabschnitt einer Albinoratte. Herdförmige Defekte der äußeren Körnerschicht, das Pigmentepithel ist stellenweise nicht zu unterscheiden.
Masson-Goldner, 360 X

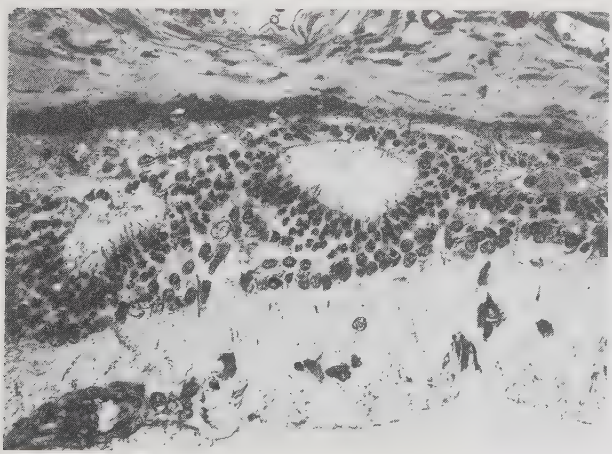


Abb. 3:

Retinadysplasie einer Haubenratte (hereditäre Fehlbildung)
Dauerbeleuchtung 300 Lux nach 4 Tagen.
Masson-Goldner, 360 X

3.2.2. Lichtinduzierte Retinaveränderungen nach 8 Tagen Dauerbeleuchtung

Albinoratten:

Die Degeneration des I. Neurons ist im Vergleich zu Tag 4 bei allen Tieren weiter fortgeschritten. Innen- und Außenglieder der Photorezeptoren sind in den zentralen Retinaabschnitten nicht mehr zu beobachten. An ihrer Stelle finden sich im Subretinalraum Reste von Zelldetritus, durchsetzt mit Makrophagen. In der äußeren Retinaperipherie sind vereinzelt Innenglieder der Stäbchen noch zu unterscheiden. Die äußere Körnerschicht besteht im zentralen Fundus nur noch aus einer bis drei Kernlagen, wobei die Kerne in der Regel pyknotisch verändert sind. Auch hier ist fokal ein totaler Verlust der Rezeptorenkerne zu beobachten. In der Retinaperipherie sind 5 - 6 Kernlagen zu unterschieden. Die Zellen des Pigmentepithels erscheinen ebenso wie an Tag 4 vergrößert. Auch hier ist die Kontinuität des einschichtigen Epithels dort unterbrochen, wo ein völliger Verlust der Kernlagen der äußeren Körnerschicht mit Ruptur der Lamina limitans externa auffällt.
Die Schichten des II. und III. retinalen Neurons zeigen ebenso wie die Bruchsche Membran keine Besonderheiten (vgl. Abb. 4). Bei allen Tieren finden sich in der Aderhaut einzelne eosinophile Granulocyten sowie mononukleäre Zellen, die auch im vitreo-retinalen Grenzbereich, vereinzelt auch in der Vorderkammer vorkommen.
Die induzierten Retinaveränderungen sind in beiden Augen gleich stark ausgeprägt.

Pigmentierte Ratten:

Abgesehen von einer monokulären fokalen Retinadysplasie bei einem männlichen Tier finden sich an der Netzhaut lichtmikroskopisch keine Auffälligkeiten.

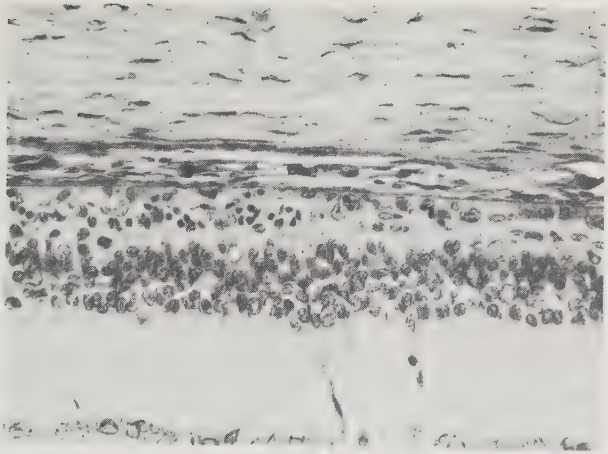


Abb. 4:

Zentraler Netzhautabschnitt einer Albinoratte 8 Tage Dauerbeleuchtung 300 Lux, fortgeschrittene Degeneration des I. retinalen Neurons.
Masson-Goldner, 360 X

3.2.3. Lichtinduzierte Retinaveränderungen nach 14 Tagen Dauerbeleuchtung

Albinoratten:

Bei 6 von 8 Tieren stellt sich die Degeneration des I. Retinaneurons wie folgt dar:
Bis auf kleine Abschnitte der äußeren Retinaperipherie sind Photorezeptoren nicht mehr nachweisbar.
Die äußere Körnerschicht besteht im zentralen und mittleren Fundus aus 1 - 2 lückenhaften Lagen pyknotischer Kerne. In der äußeren Retinaperipherie finden sich 4 - 5 Reihen meist unveränderter Rezeptorenkerne. In diesen Abschnitten sind noch fragmentierte Photorezeptoren und Makrophagen im Subretinalraum zu erkennen.

Das Pigmentepithel, dem die Lamina limitans externa direkt anliegt, ist in allen Fällen unauffällig. Die Bruchsche Membran ist gleichfalls intakt. Wie zuvor zeigt das II. und III. retinale Neuron keine Besonderheiten (vgl. Abb. 5). In der Aderhaut lassen sich ganz vereinzelt noch eosinophile Granulocyten nachweisen. Im vitreo-retinalen Grenzbereich bzw. in der Vorderkammer sind nur noch selten mononukleäre Zellen zu erkennen.
Der Stärkegrad des Retinaschadens ist jeweils an beiden Augen gleichermaßen ausgebildet.
Der Retinabefund der 2 verbleibenden männlichen Tiere unterscheidet sich von dem vorgenannten dadurch, daß die äußere Körnerschicht in ihrer gesamten Ausdehnung 3 Kernlagen aufweist. Im Subretinalraum ist noch reichlich Zelldetritus mit Makrophagen zu erkennen. Mononukleäre Zellen sind in der Vorderkammer und im vitreo-retinalen Grenzbereich vermehrt zu beobachten.

Pigmentierte Ratten:

Die Retina ist bei allen Tieren intakt.

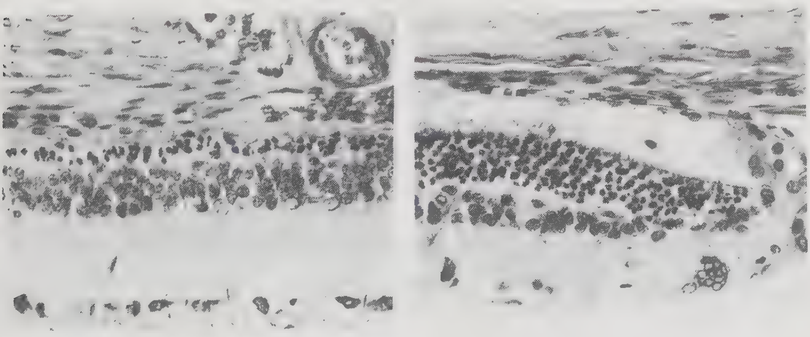


Abb. 5:

Links zentraler, rechts peripherer Netzhautabschnitt des gleichen Auges einer Albinoratte nach 14 Tagen Dauerbeleuchtung (300 Lux)
Schadensmaß in der Netzhautperipherie deutlich geringer ausgeprägt.
Masson-Goldner, 360 X

3.2.4. Lichtinduzierte Retinaveränderungen nach 30 Tagen Dauerbeleuchtung

Albinoratten:

Zu diesem Untersuchungszeitpunkt sind Photorezeptoren in keinem Auge mehr nachweisbar, so daß die Lamina limitans externa direkt dem Pigmentepithel anliegt. Die äußere Körnerschicht ist bei 5 Tieren im zentralen Fundusanteil und in der mittleren Peripherie der Netzhaut nicht mehr vorhanden. Ebenso fehlt hier stellenweise die äußere plexiforme Schicht, so daß die innere Körnerschicht an die Lamina limitans externa angrenzt. Die übrigen 3 Tiere zeigen zentral eine lückenhafte einschichtige Kernlage. Im äußeren Retinadrittel sind bei allen Ratten 1 - 2 Reihen meist pyknotischer Zellkerne vorhanden.
Der auffälligste Befund besteht zu diesem Zeitpunkt in einer beginnenden Vascularisierung des Pigmentepithels. Bei 6 der 8 Tiere kann diese Gefäßeinsprossung beobachtet werden. Die Vascularisierung geht vom oberflächlichen Kapillarnetz aus, wobei einzelne Kapillaren transversal durch die noch vorhandenen Retinaschichten ziehen und sich im einschichtigen Pigmentepithel verzweigen.
Die Bruchsche Membran sowie das II. und III. Neuron der Retina sind unauffällig (vgl. Abb. 6).
Bei 4 Tieren fallen in der Aderhaut ganz vereinzelt eosinophile Granulocyten auf. Ebenfalls nur selten finden sich mononukleäre Zellen auf der Retinaoberfläche. Der Schaden ist bei allen Tieren binokulär gleich stark ausgeprägt.

Pigmentierte Ratten:

Die Augen aller untersuchten Tiere sind lichtmikroskopisch unauffällig.

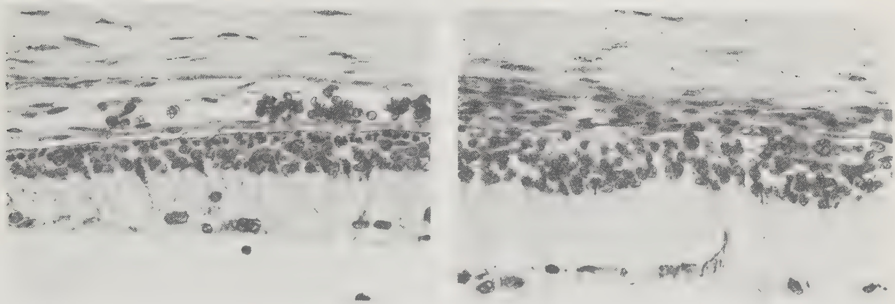


Abb. 6:

Links peripherer, rechts zentraler Retinaabschnitt einer Albinoratte nach 30 Tagen Dauerbeleuchtung (300 Lux). Photorezeptoren sind nicht mehr nachweisbar, ebenso fehlt zentral die äußere Körnerschicht.
Masson-Goldner, 360 X

3.2.5. Lichtinduzierte Retinaveränderungen nach 13 Wochen Dauerbeleuchtung

Albinoratten:

Die lichtinduzierten Netzhaut/Aderhaut - Alterationen lassen sich in 2 Schadensarten einteilen:
Kennzeichnend für die erste Schadensart (7 Tiere) ist ein völliger Verlust des I. retinalen Neurons und der äußeren plexiformen Schicht. Diese in ihrer Schichtenzahl reduzierte Retina liegt dem Pigmentepithel direkt auf. Die Schichtenstruktur des II. und III. retinalen Neurons scheint zentral und peripher gut erhalten. Bevorzugt in den zentralen Netzhautabschnitten zeigen sich zahlreiche retinale Gefäße, die transversal durch die verbliebenen Netzhautschichten zum Pigmentepithel ziehen, wo sie sich verzweigen. Die gefäßnahen Epithelzellen sind teils

um mehr als das Doppelte vergrößert. Das ursprünglich einschichtige Epithel ist an diesen Stellen oft 2 - 3 schichtig. Gelegentlich findet man vergrößerte Epithelzellen, die sich entlang der Gefäße in die Retina vorschieben. Vereinzelt liegen Kapillarknäuel mit zellreichen Gefäßwänden im Pigmentepithel, was als Hinweis für eine Gefäßneubildung aufgefaßt werden kann.
Betont werden muß jedoch, daß das Pigmentepithel in seiner gesamten Ausdehnung vorhanden und die Bruchsche Membran intakt ist (vgl. Abb. 7).
Begleitender Befund an der Aderhaut sind diskrete Infiltrate eosinophiler Granulocyten.

Im Unterschied zu diesem offensichtlich weniger ausgeprägten Schadensbild zeigen die restlichen 13 Tiere folgende Netzhaut/Aderhaut - Veränderungen:
Auch hier liegt eine komplette Degeneration des I. retinalen Neurons vor. Die äußere plexiforme Schicht ist nicht erkennbar. Auffällig ist jedoch, daß bei allen 13 Ratten im Gegensatz zum ersten Schadensbild in den zentralen und mittleren Fundusabschnitten das Pigmentepithel über weite Strecken fehlt und daß zugleich bei 7 dieser Tiere die Bruchsche Membran mehrfach fragmentiert ist, d.h.: Lückenbildungen aufweist (vgl. Abb. 8).
In den Retinaabschnitten mit erhaltenem Pigmentepithel entsprechen die Befunde dem vorgenannten Schadenstyp; an den Stellen jedoch, wo das Pigmentepithel fehlt, ist ein fokaler Verlust der Kerne des II. Neurons zu beobachten. Je nach Größe der Lücken in der Bruchschen Membran penetrieren Gliafasern allein oder zusammen mit Kernen der inneren Körnerschicht in die Aderhaut und passen sich hier in ihrer Verlaufsrichtung der bestehenden Aderhautstruktur an. Im angrenzenden chorioidalen Gewebe fallen mehrere eosinophile Granulocyten auf. Nahezu auf diese

epithellosen Abschnitte beschränkt sich das Vorkommen unterschiedlich großer sogenannter cystoider Hohlräume in den Schichten des II. und III. retinalen Neurons. Hier fehlen auch die oben beschriebenen transversal zum Pigmentepithel verlaufenden Kapillaren.

Pigmentierte Ratten:

Zwei weibliche Tiere zeigen monokulär eine fokale peripapilläre Retinadysplasie im Bereich des I. Neurons. In zwei weiteren Fällen liegt eine fokale bzw. multifokale partielle bis totale Degeneration des I. und teilweise des II. retinalen Neurons vor. Die Retinae der übrigen Tiere sind morphologisch unauffällig.

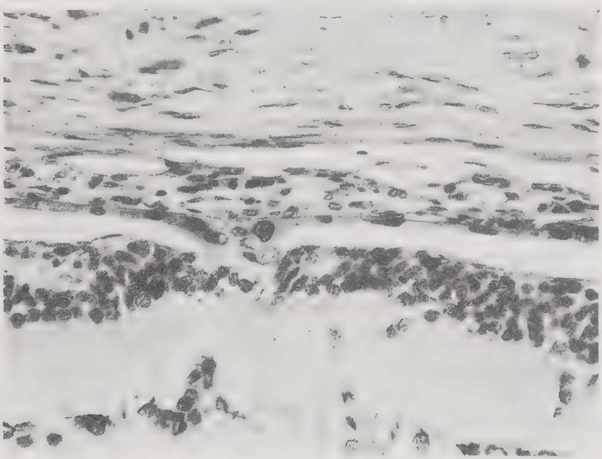


Abb. 7:

Zentraler Netzhautabschnitt einer Albinoratte nach 13 Wochen Dauerbeleuchtung (300 Lux), Schadenstyp 1.
Das I. retinale Neuron ist geschwunden, die Gefäßknäuel im Bereich des hypertrophierten Pigmentepithels kommen zur Darstellung.
Masson-Goldner, 360 X

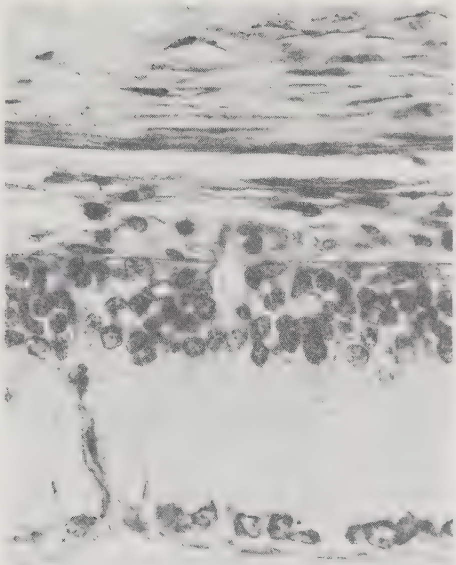


Abb. 8:

Netzhautabschnitt (mittlere Peripherie) einer Albinoratte nach 13 Wochen Dauerbeleuchtung (300 Lux), Schadenstyp 2. Ruptur der Bruchschen Membran mit Eindringen von Gliafasern in die Aderhaut.
Masson-Goldner, 560 X

3.2.6. Lichtinduzierte Retinaveränderungen nach 26 Wochen Dauerbeleuchtung

Albinoratten:

Ebenso wie in der Woche 13 lassen sich auch hier zwei graduell differente Schadensbilder unterscheiden:
Der leichtere Schadenstyp (8 Tiere) ist wie folgt charakterisiert:
Das I. retinale Neuron und die äußere plexiforme Schicht fehlen in ihrer gesamten Ausdehnung. Die innere Körner-

schicht grenzt mit den Resten der Lamina limitans externa unmittelbar an das Pigmentepithel. Die Schichten des II. und III. retinalen Neurons sind gut zu unterscheiden. Wie zuvor beobachtet, durchziehen transversal verlaufende Kapillaren die verbliebenen Netzhautschichten und vascularisieren das an diesen Stellen 2 - 3 schichtige Pigmentepithel. Die Pigmentepithelzellen sind an diesen Kontaktstellen vergrößert. In der Nachbarschaft der transversalen Gefäße fallen intraretinal hyalinähnliche meist kugelige Ablagerungen auf, die in ihrer Struktur an harte Exsudate erinnern. Vereinzelt schieben sich Kerne der inneren Körnerschicht entlang den transversalen Kapillaren zur Retinaoberfläche hin. Kennzeichnend ist auch hier ein in seiner gesamten Ausdehnung vorhandenes Pigmentepithel und eine gleichzeitig intakte Bruchsche Membran. Bei 2 von 8 dieser Tiere sind in der Aderhaut einzelne eosinophile Granulocyten zu erkennen.

Die verbleibenden 12 Tiere lassen einen ausgeprägten Lichtschaden erkennen. Typisch ist wiederum ein totaler Verlust des I. retinalen Neurons und der äußeren plexiformen Schicht. In allen Fällen ist das Pigmentepithel in den zentralen und mittleren Fundusabschnitten über weite Strecken nicht mehr vorhanden. Zusätzlich liegen bei 11 Tieren multiple Fragmentierungen der Bruchschen Membran vor. An den Stellen mit erhaltenem Pigmentepithel (vorzugsweise in der äußeren Retinaperipherie) gleichen die pathomorphologischen Alterationen dem vorgenannten Schadenstyp. In den Abschnitten ohne Pigmentepithel sind bei fragmentierter Bruchscher Membran Lücken in der inneren Körnerschicht nachweisbar, die durch Austritt von Kernen und Gliafasern in die Aderhaut zustande gekommen sind. Ebenso fallen in diesem Bereich vermehrt cystoide Hohlräume in den Schichten des II. und III. Neurons auf. Transversal verlaufende Kapillaren fehlen an diesen Stellen (vgl. Abb. 9). Das in die Aderhaut ausgetretene retinale Gewebe führt stellenweise zu einer

Verdickung der Chorioidea um das 2 - 3 fache. Eosinophile Granulocyten sind im angrenzenden Gewebe bei 8 dieser 12 Tiere nachweisbar.

Pigmentierte Ratten:

Im Vergleich zu den bisher untersuchten pigmentierten Ratten fällt in diesem Kollektiv die Anzahl der Tiere mit dysplastischen Retinae auf. Drei Ratten zeigen binokulär bevorzugt peripapillär bzw. in der mittleren Peripherie fokal oder multifokal Retinadysplasien im Sinne umschriebener Invaginationen des Neuroepithels in die Schichten des II. und III. Neurons der Retina. Darüber hinaus finden sich bei drei weiblichen Tieren derartige Veränderungen monokulär. Eine weitere weibliche Ratte weist binokulär eine fokale partielle Atrophie des I. retinalen Neurons auf. Bei den übrigen 12 Tieren sind die Retinae unauffällig.

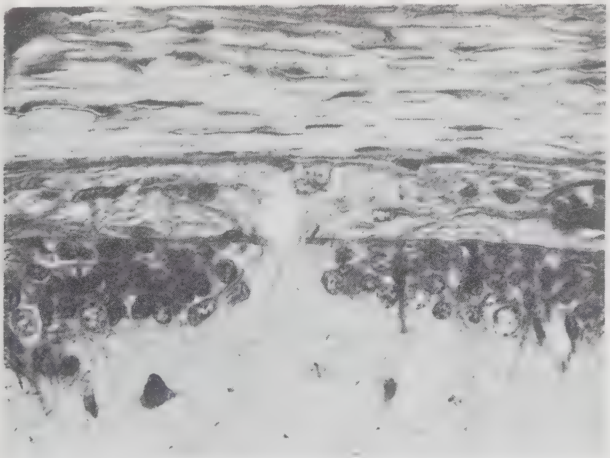


Abb. 9:

Zentraler Netzhautabschnitt einer Albinoratte nach 26 Wochen Dauerbeleuchtung (300 Lux), Schadenstyp 2.
Ruptur der Bruchschen Membran, Pigmentepithel abschnittsweise fehlend, Lücke in der inneren Körnerschicht. Ein Hohlraum ist in der inneren plexiformen Schicht erkennbar.
Masson-Goldner, 560 X

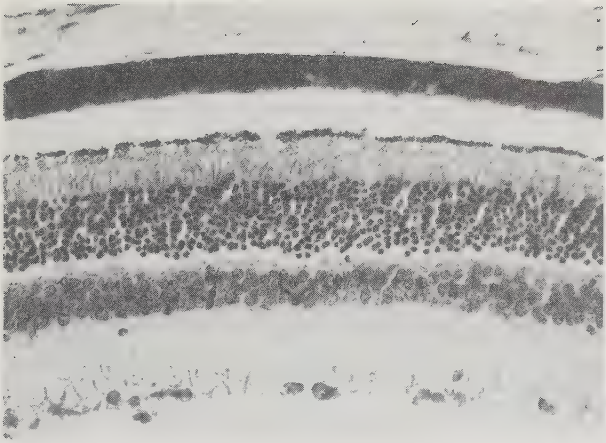


Abb. 10:

Zentraler Netzhautabschnitt einer Haubenratte nach 8 Tagen Dauerbeleuchtung (300 Lux). Keine pathomorphologischen Alterationen
Masson-Goldner, 360 X

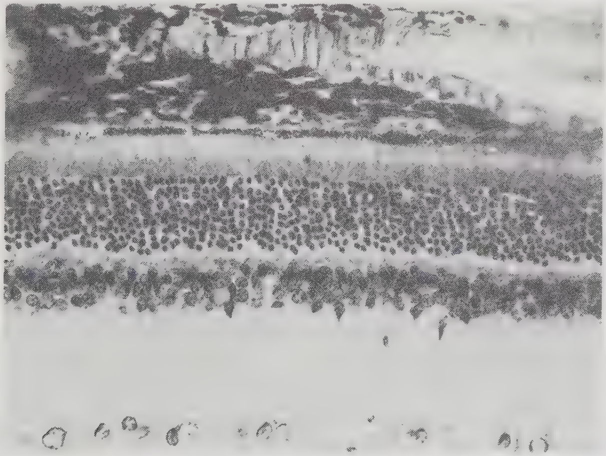


Abb. 11:

Zentraler Netzhautabschnitt einer Haubenratte nach 26 Wochen Dauerbeleuchtung (300 Lux). Normalbefund wie Abb. 10
Masson-Goldner, 360 X

3.3. Ergebnis des Altersversuchs (30 Lux)

3.3.1. Vorbemerkungen zur Statistik des Altersversuchs

Da zu erwarten war, daß im Gegensatz zu den augenfälligen lichtinduzierten Retinaalterationen die altersabhängigen Veränderungen der Netzhaut bei den hier vorgenommenen Altersabstufungen der Versuchstiere nicht so eindeutig ausfallen würden, wurde im zweiten Versuchsabschnitt mit Hilfe morphometrischer Methoden versucht, diese eher diskreten Veränderungen quantitativ zu erfassen.
Die Gesamtanalyse der Ergebnisse dieses Versuchsabschnittes ist in der Tabelle 3 zusammengefaßt. Die 3-Wege-Varianzanalysen haben für die zentralen und peripheren Abschnitte der äußeren Körnerschicht signifikante Wechselwirkungen ergeben, während für die gleichen Abschnitte der inneren Körnerschicht Wechselwirkungen nicht nachweisbar waren.
Ein signifikanter Unterschied hinsichtlich des Geschlechtes der Versuchstiere läßt sich bei beiden Abschnitten der äußeren Körnerschicht sowie für die zentrale innere Körnerschicht nicht nachweisen. In den peripheren Abschnitten der inneren Körnerschicht bedingt der Unterschied von durchschnittlich 12 Zellkernen bei den weiblichen Tieren zu 13 Kernen bei den männlichen Ratten die statistische Signifikanz. Diesem geringen zahlenmäßigen Unterschied wird aber keine biologische Bedeutung zugemessen. Deshalb werden in den folgenden Erörterungen die Ergebnisse beider Geschlechter zusammengefaßt betrachtet.

Die eindeutigen Wechselwirkungen Stamm X Alter bzw. die Hauptwirkungen Alter und Stamm machen es erforderlich, daß die einzelnen biologischen Parameter im Folgenden nach Altersgruppen und Stämmen getrennt dargestellt werden.

3.3.2. Lebensalter 21 Wochen - 13 Wochen Dauerbeleuchtung

Albinoratten:

Die Retinae aller Augen sind bei 19 Tieren in Anordnung und Struktur regelrecht ausgebildet, die äußere Körnerschicht läßt in den zentralen Retinaabschnitten 10 - 12 Kernlagen erkennen, in der Netzhautperipherie etwa 5 Kernlagen.
Die innere Körnerschicht besteht peripapillär aus 4 und nahe der Ora serrata aus zwei Lagen von Zellkernen. Ein Tier weist monokulär eine fokale Retinadysplasie auf. Die Ergebnisse der Kernzählungen bei 10 dieser Tiere sind den graphischen Darstellungen und Tabellen zu entnehmen.

Pigmentierte Ratten:

Bei 13 von 19 Tieren ist eine in Aufbau und Struktur normale Retina zu erkennen. Vergleichbar den albinotischen Tieren besteht auch hier die äußere Körnerschicht zentral aus 10 - 12 Kernlagen und in den peripheren Fundusabschnitten aus 5 Lagen von Zellkernen.
Die innere Körnerschicht läßt zentral mehrheitlich 4 Kernlagen und peripher ebenfalls zwei Kernlagen erkennen. 5 Ratten zeigen jeweils monokulär eine fokale Dysplasie der Netzhaut. Die dysplastischen Bezirke sind auch hier durch eine Invagination des Neuroepithels in die Schichten des II. und III. Neurons der Retina gekennzeichnet. Ein weiteres Tier zeigt binokulär eine mikrocystische Degeneration der Ganglienzell- und Nervenfaserschicht.
Das Ergebnis der morphometrischen Untersuchung der Retinae an 10 Tieren kann den graphischen Darstellungen und Tabellen entnommen werden.

3.3.3. Lebensalter 34 Wochen - 26 Wochen Dauerbeleuchtung

Albinoratten:

Die Netzhaut aller Tiere zeigt eine normale Struktur. Im Vergleich zu den Befunden der 21 Wochen alten Tiere ergeben sich keine augenfälligen Unterschiede hinsichtlich der Kernzahlen im Bereich der äußeren Körnerschicht. In den zentralen Retinaabschnitten der inneren Körnerschicht werden etwa 6 Kerne pro Raster weniger gezählt als bei der jüngeren Altersgruppe. Dieser zahlenmäßige Unterschied liegt im Newman-Keuls-Test im Grenzbereich der statistischen Signifikanz (vgl. graphische Darstellungen 1 und 2).

Pigmentierte Tiere:

Die Retinae sind bei den untersuchten Tieren in Anordnung und Struktur morphologisch unauffällig. Im Vergleich zu den 21 Wochen alten Tieren ergeben sich ebenfalls keine Unterschiede. Dieser Eindruck wird durch die quantitativen Untersuchungen und Berechnungen bestätigt. Für die äußere Körnerschicht werden bei den Kernzählungen weder zentral noch peripher signifikante Unterschiede zu den 21 Wochen alten Tieren festgestellt. Für die zentralen Abschnitte der inneren Körnerschicht bedingt die Differenz von 6 Zellkernen die statistische Signifikanz zu der jüngeren Altersgruppe (vgl. graphische Darstellungen 3 und 4).

3.3.4. Lebensalter 60 Wochen - 52 Wochen Dauerbeleuchtung

Albinoratten:

Kennzeichnend für diese Altersgruppe sind ausschließlich Veränderungen am I. und II. retinalen Neuron. Lichtmikroskopisch ist bei erhaltener Schichtenstruktur der Netz-

haut eine Reduktion der Kernlagen der äußeren Körnerschicht festzustellen. Bei der Mehrzahl der Tiere werden zentral 8 Kernlagen und peripher 3 Kernlagen gezählt. Die innere Körnerschicht weist zentral 3 - 4 und peripher 1 - 2 Kernlagen auf.

Dieser augenfällige Unterschied bestätigt sich bei der biometrischen Auswertung der quantitativen Kernzahlbestimmungen. Im Vergleich zu den 21 Wochen bzw. 34 Wochen alten Tieren ist die Kernzahl der äußeren Körnerschicht in den zentralen Netzhautabschnitten signifikant reduziert. Auch in der Netzhautperipherie läßt sich eine signifikante Rarefizierung der Zellkerne der äußeren Körnerschicht gegenüber den beiden jüngeren Altersgruppen errechnen.
Vergleichbare signifikante Abnahmen der Kernzahl im Bereich der inneren Körnerschicht lassen sich nur im zentralen Fundus gegenüber den 21 Wochen alten Tieren nachweisen, während eine Reduktion der Zellkerne gegenüber den 34 Wochen alten Tieren nicht zu errechnen ist. In der Netzhautperipherie bleibt die Verminderung der Kernzahl im Newman-Keuls-Test knapp unterhalb des Signifikanzniveaus. Zentral ist die innere Körnerschicht gegenüber den 34 Wochen alten Tieren unauffällig (vgl. graphische Darstellungen 1 und 2).

Pigmentierte Tiere:

Im Gegensatz zu den Albinoratten ist zu diesem Zeitpunkt eine Reduktion der Kernlagen der äußeren Körnerschicht nicht so deutlich ausgeprägt. Bei den pigmentierten Tieren sind peripapillär 9 - 10 Kernlagen und in der Fundusperipherie 4 - 5 Kernlagen zu erkennen. Die innere Körnerschicht zeigt zentral 4 und peripher 2 Kernlagen.

Bei der biometrischen Auswertung läßt sich ein errechenbarer Alterseinfluß für die äußere Körnerschicht weder zu den 21 Wochen noch zu den 34 Wochen alten pigmentierten Ratten nachweisen.
Eine signifikante Reduktion der Kernzahl der inneren Körnerschicht ist nur in den zentralen Netzhautabschnitten im Vergleich zu den 21 Wochen alten Tieren festzustellen. Die peripheren Anteile der inneren Körnerschicht zeigen keinen Alterseinfluß (vgl. graphische Darstellungen 3 und 4).

3.3.5. Lebensalter 86 Wochen - 78 Wochen Dauerbeleuchtung

Albinoratten:

Lichtmikroskopisch sind auch bei diesen Tieren, ähnlich den 60 Wochen alten Ratten, die auffälligsten strukturellen Veränderungen am I. und II. retinalen Neuron zu beobachten. Die Rarefizierung der äußeren Körnerschicht ist so weit fortgeschritten, daß im zentralen Fundus nur noch 6 - 8 Kernlagen und in der Netzhautperipherie noch 2 - 3 Kernlagen zu erkennen sind.
Die Kernlagen der inneren Körnerschicht sind zentral auf 3 und peripher auf 1 - 2 Lagen reduziert. Alle Retinae zeichnen sich durch eine erhaltene Schichtenstruktur aus. Auffällige Alterationen am uvealen oder retinalen Gefäßsystem sind nicht zu beobachten.
Der lichtmikroskopische Befund wird durch die Kernzählungen bestätigt. Zentral wie peripher ist die Kernzahl der äußeren Körnerschicht im Vergleich zu den 21 und 34 Wochen alten Tieren signifikant reduziert. Gegenüber den 60 Wochen alten Ratten ist jedoch ein statistischer Unterschied nur für die zentralen Retinaabschnitte zu sichern.

Die Veränderungen im Bereich der inneren Körnerschicht stellen sich folgendermaßen dar:
Eine signifikante Reduktion der Kernzahl ist in den zentralen Netzhautabschnitten nur im Vergleich zu den 21 Wochen alten Tieren nachzuweisen. In der Fundusperipherie besteht ein solcher Unterschied eindeutig gegenüber den 34 Wochen alten Tieren, gegenüber der Altersgruppe von 21 Wochen liegt dieser nicht so deutliche Unterschied knapp unterhalb des statistischen Signifikanzniveaus (vgl. graphische Darstellungen 1 und 2).

Pigmentierte Tiere:

Ebenso wie bei den albinotischen Tieren, graduell jedoch geringer, fallen altersabhängige Veränderungen am I. und II. retinalen Neuron auf. Peripapillär sind 8 - 9 peripher 4 - 5 Kernlagen der äußeren Körnerschicht zu erkennen.
Die Kernreihen der inneren Körnerschicht bestehen zentral aus 4 und peripher aus 1 - 2 Lagen.
In einem Auge findet sich eine fokale Retinadysplasie.
Abgesehen von der Rarefizierung der Zellkerne im Bereich der äußeren und inneren Körnerschicht zeigen die Retinae keine Auffälligkeiten.
Bei der biometrischen Auswertung läßt sich eine hochsignifikante Reduktion der Kernzahl für die äußere Körnerschicht im zentralen Fundus gegenüber allen jüngeren Altersgruppen errechnen. In der Netzhautperipherie hingegen kann lediglich ein einfacher statistisch signifikanter Unterschied zu den 21 und 34 Wochen alten Tieren errechnet werden. Gegenüber den 60 Wochen alten Ratten liegt die Kernzahldifferenz knapp unterhalb des statistischen Signifikanzniveaus.
Die innere Körnerschicht zeigt in den zentralen Retinaabschnitten eine hochsignifikante Reduktion der Kern-

zahl nur gegenüber den 21 Wochen alten Tieren. Zu den 34 und 60 Wochen alten Ratten besteht kein errechenbarer Unterschied. In der Retinaperipherie ist eine einfache statistische Signifikanz zu allen übrigen Altersgruppen festzûstellen (vgl. graphische Darstellungen 3 und 4).

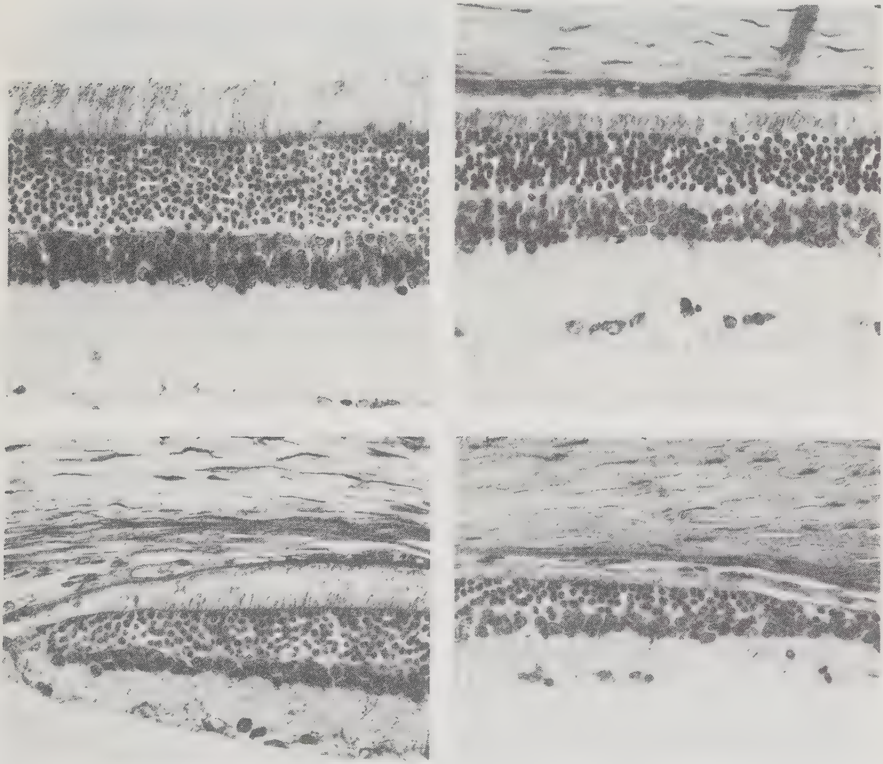


Abb. 12:

Oben zentrale, unten periphere Retinaabschnitte von Albinoratten
links 21 Wochen altes Tier, rechts 86 Wochen altes Tier.
Die Dicke der äußeren und der inneren Körnerschicht ist bei dem 86 Wochen alten Tier vermindert.
Masson-Goldner, 360 X

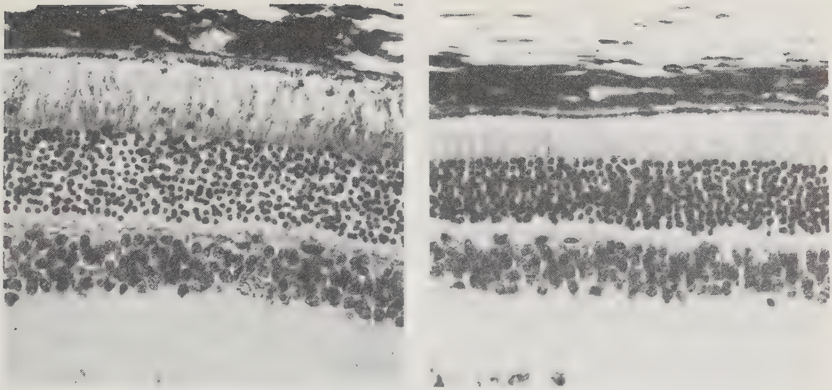


Abb. 13:

Zentrale Netzhautabschnitte von Haubenratten
links 21 Wochen altes Tier, rechts 86 Wochen altes Tier
Auch hier ist bei dem älteren Tier eine Abnahme der Dicke der äußeren und inneren Körnerschicht zu erkennen.
Masson-Goldner, 360 X

3.4. Zusammenfassung des Untersuchungsergebnisses

Der lichtinduzierte Retinaschaden des Rattenauges besteht aufgrund unserer lichtmikroskopischen Befunde in folgenden Veränderungen:

1. Es findet sich eine vollständige Destruktion der Stäbchen, die nach einer Woche Dauerbeleuchtung (300 Lux) weitgehend, nach 2 Wochen Dauerbeleuchtung vollständig abgeschlossen ist. Bis zu diesem Zeitpunkt haben Makrophagen und mononukleäre Zellen den Zelldetritus vollständig abgeräumt. Nach Tag 14 sind Photorezeptoren, von minimalen Residuen in der Netzhautperipherie abgesehen, nicht mehr nachweisbar.

2. Die im Normfall aus 8 - 12 Kernlagen bestehende äußere Körnerschicht ist bis zur Woche 13 gleichfalls vollständig (wenige Residualkerne ausgenommen) geschwunden, wobei der Schaden von zentral nach peripher fortschreitet.

3. Ab Woche 13 ist die äußere plexiforme Schicht nicht mehr nachweisbar.

4. Das Pigmentepithel zeigt bis zum Tag 8 herdförmige Defekte, ist zu den Untersuchungszeitpunkten Tag 14 und Tag 30 jedoch durchgehend erhalten. Es läßt ab Tag 30 eine zunehmende Neovaskularisierung mit Zellhypertrophie erkennen. Zu den Untersuchungszeitpunkten der Woche 13 und der Woche 26 ergeben sich unterschiedliche Untersuchungsbefunde: Bei 13 von 20 Tieren (Woche 13) ist das Pigmentepithel abschnittsweise nicht mehr zu unterscheiden, was in Woche 26 bei 10 von 18 untersuchten Tieren der Fall ist. Die übrigen Tiere zeigen jeweils ein durchgehend erhaltenes Pigmentepithel.

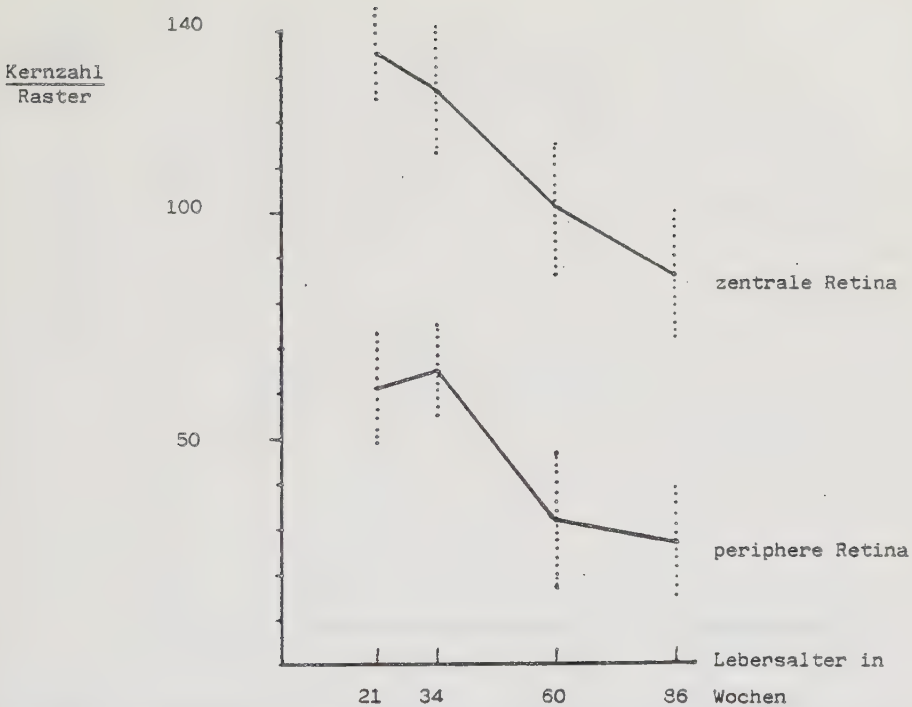
5. Die Bruchsche Membran ist bis zum Tag 30 intakt. Bei den Tieren der Woche 13 und der Woche 26 mit fokal fehlendem Pigmentepithel (überwiegend sind zentrale Retinaabschnitte betroffen) finden sich Lückenbildungen in der Bruchschen Membran, wobei neuronales Gewebe in die Aderhaut prolabiert. Dies führt zu einem partiellen Verlust der Retinaschichtenstruktur. Bei den Tieren mit erhaltenem Pigmentepithel finden sich keine Lücken in der Bruchschen Membran.

6. Die Aderhaut zeigt in abnehmender Zahl von Tag 4 bis Tag 30 eosinophile Granulocyten, die an Woche 26 nur bei 6 von 10 Tieren (stärkeres Schadensbild) nachweisbar sind.

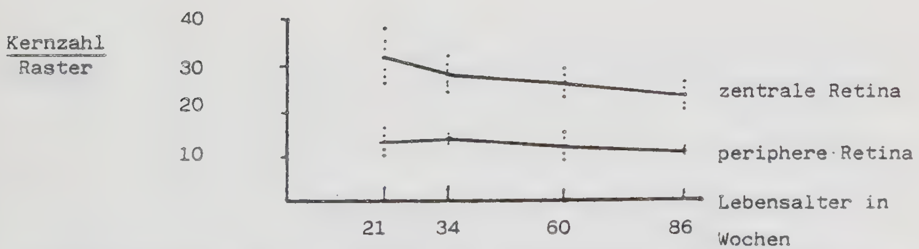
7. Mononukleäre Zellen im vitreo-retinalen Grenzbereich und in der Vorderkammer nehmen kontinuierlich ab und sind nach dem Untersuchungszeitpunkt Tag 30 nicht mehr zu beobachten.

   Der in dieser Form ausschließlich bei Albinoratten zu beobachtende lichtinduzierte Retinaschaden besteht somit in einer von zentral nach peripher fortschreitenden vollständigen Degeneration des I. retinalen Neurons, wobei sekundär infolge fokalen Pigmentepithelverlustes und Schäden an der Bruchschen Membran auch das II. Neuron der Retina betroffen ist.

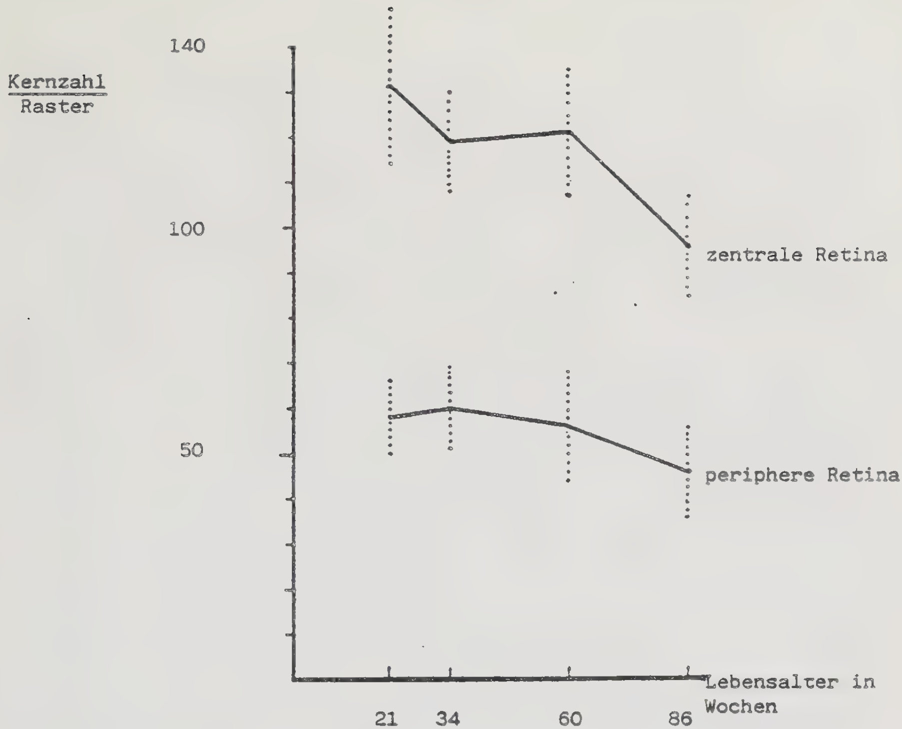
Bei den Tieren des Altersversuches werden folgende Veränderungen an der Retina festgestellt:
Es kommt mit zunehmendem Lebensalter zu einer Reduktion der Kerne der äußeren und inneren Körnerschicht verbunden mit einer Rarefizierung der Photorezeptoren. Eindeutig nachweisbar werden diese Veränderungen bei Albinoratten in einem Alter von 60 Wochen, während bei den Haubenratten die Rarefizierung der Zellkerne für die äußere Körnerschicht erst bei den 86 Wochen alten Tieren zu erkennen ist.
Für die innere Körnerschicht wird bei den pigmentierten Tieren zwar bereits für die Altersgruppen der 34 und 60 Wochen alten Ratten eine statistisch signifikante jedoch zahlenmäßig geringe Abnahme der Kernzahlen beobachtet, bei den 86 Wochen alten Tieren werden diese Veränderungen insbesondere in den zentralen Netzhautabschnitten deutlicher ausgeprägt. Die Minderung der Kernzahlen im Bereich der äußeren Körnerschicht ist bei den Albinoratten zentral und peripher besser erkennbar als bei den pigmentierten Tieren.
Für die innere Körnerschicht bestehen hinsichtlich der Abnahme der Zellkerne keine errechenbaren Stammesunterschiede.



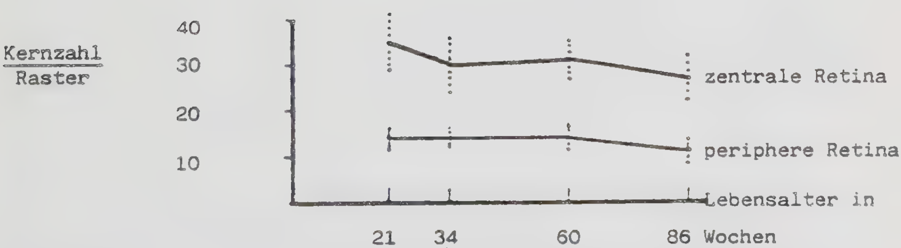
Graphische Darstellung 1: Vergleich der Kernzahlen der äußeren Körnerschicht in Abhängigkeit vom Lebensalter bei Albinoratten. Darstellung der Mittelwerte und Standardabweichungen



Graphische Darstellung 2: Vergleich der Kernzahlen der inneren Körnerschicht in Abhängigkeit vom Lebensalter bei Albinoratten. Darstellung der Mittelwerte und Standardabweichungen



Graphische Darstellung 3: Vergleich der Kernzahlen der äußeren Körnerschicht in Abhängigkeit vom Lebensalter bei Haubenratten. Darstellung der Mittelwerte und Standardabweichungen



Graphische Darstellung 4: Vergleich der Kernzahlen der inneren Körnerschicht in Abhängigkeit vom Lebensalter bei Haubenratten. Darstellung der Mittelwerte und Standardabweichungen

4. Diskussion der Ergebnisse

Seit 1966 ist bekannt, daß die Netzhaut des Rattenauges auf die Einwirkung hoher Lichtintensitäten mit degenerativen Veränderungen des I. und II. Neurons reagiert, was heute im Sinne einer photodynamischen Lichtschädigung gedeutet wird (NOELL 1966, GORN und KUWABARA 1967). Daß es am Rattenauge unter der Einwirkung verhältnismäßig hoher Lichtintensitäten (500 Lux und höhere Beleuchtungsstärken) zu Schäden an den Lichtrezeptoren (Stäbchen) und Zellen der Netzhaut kommt, erscheint verständlich. Handelt es sich bei der Ratte doch um ein nachtaktives Tier, dessen Lichtrezeptoren in der Netzhaut fast ausschließlich aus Stäbchen bestehen, so daß die zuvor genannten Beleuchtungsstärken für das Rattenauge ein völlig unphysiologisches Milieu darstellen. Die beobachteten Retinaveränderungen wären somit - zumindest vordergründig - leicht erklärbar. Schwieriger wird die Interpretation der morphologischen Veränderungen an der Netzhaut des Rattenauges dann, wenn nur mäßig hohe Lichtintensitäten einwirken, besonders wenn bei Langzeitversuchen nur geringe Lichtintensitäten benutzt wurden. Hier wären neben den zu erwartenden degenerativen Lichtschäden möglicherweise Altersveränderungen zu beobachten, die von dem lichtinduzierten Retinaschaden abzugrenzen sind. Dieser Fragestellung wurde in der vorliegenden Arbeit nachgegangen.

Wie sind die hier erhobenen Befunde zu werten?

Es zeigen sich zwei unterschiedliche Schadensmuster, je nachdem ob Licht einer Beleuchtungsstärke von 300 Lux oder nur 30 Lux einwirkte.

4.1. Lichtinduzierter Retinaschaden

Unter der Dauerbeleuchtung einer Stärke von 300 Lux können bei albinotischen Ratten die vorne beschriebenen schweren Retinaschäden beobachtet werden. Das I. retinale Neuron schwindet in jedem Falle vollständig, bei 23 Tieren der Altersgruppen Woche 13 und Woche 26 ist sekundär auch das II. retinale Neuron betroffen. Hier prolabieren Kerne der inneren Körnerschicht und Gliagewebe durch Lücken in der Bruchschen Membran in die Aderhaut. Bei den Haubenratten, die der gleichen Beleuchtungsstärke ausgesetzt waren, fanden sich typische Lichtschadensmuster jedoch nicht. Abgesehen von den bei mehreren Tieren vorliegenden Retinadysplasien waren nur bei drei pigmentierten Ratten der Wochen 13 und 26 herdförmige partiell bis total ausgeprägte Atrophien des I. retinalen Neurons zu beobachten, die als lichtinduziert gedeutet werden könnten, während die übrigen 68 Tiere keine Veränderungen der Netzhaut im Sinne einer akuten Lichtschädigung erkennen ließen. Stammesunterschiede sind somit eindeutig nachweisbar, die wir in Übereinstimmung mit RAPP und WILLIAMS (1980) und LAVAIL (1980) auf den Melaningehalt des Auges, insbesondere der Iris, bei pigmentierten Ratten beziehen möchten. Einmal vermindern die Melaningranula der Iris bei nicht erweiterter Pupille durch Absorption des Lichtes die an der Netzhaut wirksame Dosis, zweitens sind nach Ansicht von RAPP auch die Melaningranula des Pigmentepithels und der Choroidea durch Minderung der Streulichtanteile an der Lichtabsorption beteiligt. Weiterhin wird vermutet, daß Melanin als Elektronenacceptor in Funktion treten kann und somit das Gewebe vor freien Radikalen und aktiviertem Sauerstoff schützt.

Bei albinotischen Tieren fehlen alle diese Schutzmechanismen, da sie kein Melanin besitzen und das Licht die Netzhaut ungehindert erreichen kann.

Das von uns bei Albinoratten festgestellte Lichtschadensmuster unterscheidet sich nicht wesentlich von den Befunden der in der Einleitung zitierten Autoren und ist nahezu mit dem von O'STEEN et al. (1974) beschriebenen Schadensbild identisch. Bemerkenswert schien auch uns das Verhalten der Netzhautkapillaren, die immer wieder von den innersten Retinaschichten ausgehend transversal durch die noch vorhandenen Netzhautschichten ziehend sich im hypertrophierten Pigmentepithel verzweigten.

Als weitere Besonderheit unserer Untersuchungen wäre zu bemerken, daß das Pigmentepithel niemals vollständig verschwindet. Es zeigt zwar an den Untersuchungszeitpunkten Tag 4 und Tag 8 herdförmige Defekte, wobei jedoch die Bruchsche Membran erhalten ist. Das Pigmentepithel ist dann an Tag 14 und Tag 30 durchgehend erhalten, wobei an Tag 30 die oben beschriebenen Veränderungen bestehen. Zu den späteren Untersuchungszeitpunkten ist bei 23 von 38 Albinoratten ein herdförmiger Verlust des Pigmentepithels mit Schäden an der Bruchschen Membran festzustellen. Bei den restlichen 15 Tieren ist das Pigmentepithel gleichfalls durchgehend erhalten.
Diese Befunde stehen in einem gewissen Widerspruch zu den Veröffentlichungen von NOELL (1980), in denen er bezüglich der Rhodopsin vermittelten Lichtschadensart des I. Typs bei Abwesenheit der äußeren Körnerschicht vom Verlust des Pigmentepithels berichtet.
Die unterschiedlichen Befunde können durch andersartige Versuchsbedingungen erklärt werden. So beobachtet NOELL die beschriebene Lichtschadensart bei Anwendung höherer Beleuchtungsstärken als die hier angewandten 300 Lux. Möglicherweise besteht für den herdförmigen Verlust des Pigmentepithels an den ersten beiden Untersuchungszeitpunkten die Erklärung darin, daß es unter Lichteinfluß zu einer gesteigerten Phagocytosetätigkeit des Pigment-

epithels kommt, welches dann an seinem ursprünglichen Platz nicht mehr unterschieden werden kann. Entsprechende Untersuchungen wurden von HALL (1978) an Pigmentepithelkulturen durchgeführt, wobei lichtexponierte Stäbchenaußenglieder von den Pigmentepithelzellen begieriger phagocytiert wurden als die dunkeladaptierten Außensegmente.

Übert den Mechanismus der durch Licht induzierten Retinaschädigung besteht derzeit noch keine hinreichende Kenntnis. NOELL (1980) diskutiert mehrere Hypothesen, die mit den unter Lichteinwirkung in den Rezeptoren ablaufenden Stoffwechselvorgängen in Zusammenhang stehen könnten. (Photooxidation, Retinol-induzierte Membranolyse, Rhodopsin vermittelte physiologische Vorgänge, die unter den Beleuchtungsbedingungen des Labors derart gesteigert ablaufen, daß es zur Überforderung des Zellmetabolismus kommt.)

Auch DELMELLE (1978) vertritt die Ansicht, daß durch den Vorgang der Rhodopsin-Bleichung Metaboliten entstehen könnten, die sich wie Photosensibilisatoren verhalten, so daß es durch Photooxidationsvorgänge zu Membranschäden kommt.
CROUCH (1980) schloß aus ihren in vitro-Versuchen, daß die Einwirkung sichtbaren Lichtes auf Opsin zur Photooxidation ungesättigter Fettsäuren und somit zu Membranschäden führt. Der als Photosensibilisator wirksame Metabolit konnte jedoch von CROUCH nicht identifiziert werden.

Hinsichtlich der Entstehung des retinalen Lichtschadens am Rattenauge können jedoch folgende Erkenntnisse als gesichert angesehen werden:

Neben der einwirkenden Lichtdosis (Beleuchtungsstärke, Expositionsdauer) ist die Bleichkraft des Lichtes für Rhodopsin maßgebend für den beobachteten Retinaschaden (NOELL et al. 1966, GORN und KUWABARA 1967, ANDERSON 1972).

Die Einwirkung von Dauerlicht verursacht stärkere Retinaschäden als cyklische Beleuchtung (O'STEEN et al. 1974, HAYASAKA und LAI 1979, NOELL 1980).

Eine Reduktion des Vitamin A - Angebotes im Futter vermindert das Ausmaß der Retinaschädigung im Lichtversuch (STÖTZER et al. 1970, NOELL und ALBRECHT 1971).

Eine Erhöhung der Körpertemperatur (Gewebetemperatur) der Versuchstiere bei sonst konstanter Versuchsanordnung führt zu stärkeren Netzhautschäden (NOELL et al. 1966).

Babyratten im Alter bis zu 10 Tagen sind wenig empfindlich gegenüber der Einwirkung hellen Lichtes, was auf den zunächst noch nicht funktionstüchtigen Sehapparat (Rhodopsin erst ab dem 10. Tage postpartal in der Rattenretina nachweisbar) bezogen wird (KUWABARA und FUNAHASHI 1976).

Aufgrund dieser Erkenntnisse nehmen auch wir an, daß bei dem Mechanismus der Lichtschädigung an der Rattenretina ein Zusammenhang mit dem Stoffwechsel des Sehpigmentes bestehen muß, wobei ein bisher noch nicht identifiziertes Intermediärprodukt des Rhodopsins, das unter den genannten Bedingungen vermehrt anfällt, als auslösendes Agens in Frage kommen mag.

4.2. Altersabhängige Retinaveränderungen

Bei allen 319 Augen der in diesem Versuch eingesetzten 161 Tiere war in keinem Fall die für den akuten Lichtschaden an der Rattenretina typische totale Degeneration des I. retinalen Neurons sowie die Beteiligung des II. Neurons festzustellen, so wie sie bei den Albinoratten des Lichtversuchs beschrieben wurde.

Hingegen fiel mit zunehmendem Alter eine Verschmächtigung der Netzhautschichten auf, wobei insbesondere die äußere Körnerschicht, bei Albinoratten und pigmentierten Tieren unterschiedlich ausgeprägt, betroffen war. Auch die innere Körnerschicht zeigte mit zunehmendem Alter einen Schwund an Zellkernen.

Bei kritischer Wertung des Ergebnisses der statistischen Analysen fällt folgendes auf (vgl. Tabelle 3):
Hinsichtlich der Kernzahlen der äußeren Körnerschicht ist die Wechselwirkung Stamm X Alter von besonderem Interesse. Bei der inneren Körnerschicht zeigt die Hauptwirkung Alter die größte Bedeutung, Stammesunterschiede bestehen hinsichtlich der Abnahme der Kernzahl pro Rasterbreite offensichtlich nicht. Hingegen besteht für die Hauptwirkung Stamm ein statistischer Unterschied in den Kernzahlen der zentralen Abschnitte der inneren Körnerschicht. Die um 3 Zellkerne größere Anzahl von Kernen bei den pigmentierten Tieren bedingt die statistische Signifikanz. Eine einleuchtende Erklärung hierfür kann derzeit nicht gegeben werden, auch möchten wir diesem geringen zahlenmäßigen Unterschied keine biologische Bedeutung zukommen lassen. COERS (1983) beschreibt zwar bei pigmentierten Ratten eine größere Anzahl von Kernlagen der äußeren Körnerschicht als bei Albinoratten, was den Schluß zuließe, daß bei diesen Tieren auch eine stärkere innere Körnerschicht bestehen könnte. Hierüber werden in seiner Arbeit jedoch keine Angaben gemacht.

Altersveränderungen am Rattenauge sind bislang nur selten untersucht worden. WEISSE et al (1974) beschreiben eine Rarefizierung der Kernzahl der äußeren Körnerschicht von 35,7 % sowie der inneren Körnerschicht von 26,9 %, wobei die Versuchsdauer bis zu 3 Jahren betrug und eine cyklische Beleuchtung einer Stärke von weniger als 19 Lux angewandt wurde. Besonders betroffen schien in dieser Studie die Retinaperipherie.
Bei Betrachtung der graphischen Darstellungen der vorliegenden Arbeit sowie der Tabelle 8 fällt auf, daß die Rarefizierung der Kerne der inneren Körnerschicht bei beiden Stämmen etwa den von WEISSE genannten Zahlen entspricht.
Für die äußere Körnerschicht ergeben sich in den zentralen Netzhautabschnitten der Albinoratten ähnliche Zahlenwerte, während die Netzhautperipherie eine stärkere Abnahme der Kernzahl erkennen läßt. Die Haubenratten zeigen in beiden Netzhautarealen eine geringere Rarefizierung der Kernzahlen als bei WEISSE angegeben.

Auf welche Einflüsse sind nun die aufgezeigten Unterschiede zwischen albinotischen und pigmentierten Tieren zurückzuführen? Die Annahme, daß der Alterungsprozeß bei beiden Tierstämmen unterschiedlich schnell voranschreitet, läßt sich nur aufgrund der rascheren Abnahme der Kernzahlen im Bereich der äußeren Körnerschicht stützen, während im Bereich der inneren Körnerschicht keine Stammesunterschiede hinsichtlich der Reduktion der Kernzahlen bestehen.

Wenn man neben dem Alterseinfluß andere mögliche Einflußgrößen in Rechnung stellt, bietet sich zunächst die Annahme an, daß trotz der geringen Beleuchtungsstärke von 30 Lux infolge der langen Versuchsdauer ein Einfluß des Lichtes auf die Kernzahlen der äußeren Körnerschicht bei albinotischen Tieren besteht. Gestützt wird diese Annahme

durch NOELL (1980), der zwei verschiedene Lichtschadensmuster beschreibt. Insbesondere kommt es auch dann zu einem mehr diffusen Rezeptorenzellverlust bei erhaltenem Pigmentepithel, wenn im Langzeitversuch relativ niedrige Beleuchtungsstärken angewandt wurden. Für die Annahme einer zusätzlichen Lichtwirkung spricht weiterhin die Tatsache, daß die Reduktion der Kernzahl bei den pigmentierten Ratten erst in der 86. Lebenswoche im Vergleich zu den jüngeren Altersgruppen signifikant wird, während bei den Albinoratten die Rarefizierung der Kernzahl bereits nach 60 Wochen statistisch nachweisbar ist.

Sofern man eine Lichtwirkung bei 30 Lux Dauerbeleuchtung an der Netzhaut der pigmentierten Ratten annimmt, ist sie erst mit einer Verzögerung von 3 Monaten gegenüber den Albinoratten nachweisbar und zudem insbesondere in der Netzhautperipherie geringer ausgeprägt, was unseren Befunden im Lichtversuch entspricht.

Daß jedoch der Lichteinfluß als alleiniger Faktor für die im Langzeitversuch beschriebenen Veränderungen verantwortlich ist, erscheint ebenfalls unwahrscheinlich. So war bei den 86 Wochen alten Tieren ohne Unterschied hinsichtlich des Tierstammes als extraretinale Veränderung des Auges eine deutliche Dickenzunahme der Descemtschen Membran der Linse zu beobachten (Meßversuche waren aus methodischen Gründen sehr schwierig, so daß das gewonnene Zahlenmaterial statistisch nicht ausgewertet wurde.). WEISSE et al (1974) beschreiben ebenfalls diese Veränderungen als typisches Altersmerkmal. Die übrigen von WEISSE beschriebenen morphologisch faßbaren Altersveränderungen wie Gefäßwandsklerosierungen sowie die Zunahme kollagener Fasern in Ciliarkörper und Iriswurzel waren in der vorliegenden Untersuchung nicht zu beobachten.

In der Arbeit von LAI et al. (1978) wird ebenfalls von Altersveränderungen der Netzhaut albinotischer Ratten berichtet, die sich als schrittweiser Photorezeptorzellverlust darstellen. Insbesondere die Veränderungen in der Retinaperipherie werden von dieser Arbeitsgruppe eher als altersbedingt denn als lichtinduziert angesehen, zumal dort die geringste Lichtdosis die Photorezeptoren erreicht. Auch LAI beschreibt jedoch einen stärkeren Verlust der Photorezeptorzellen dann, wenn höhere Beleuchtungsstärken eingewirkt haben (344 Lux). Zudem berichtet er von Netzhautveränderungen, die unter Berücksichtigung der eigenen Befunde als lichtinduzierte Retinaschäden gedeutet werden können.

Die im der vorliegenden Arbeit beschriebenen altersabhängigen Retinaveränderungen sind nach unserer Meinung sowohl auf den fortschreitenden Altersprozeß bei den Versuchstieren als auch auf Summationseffekte des Lichtes über die 18 Monate lange Versuchsdauer zu beziehen. Die bei den 60 Wochen alten Albinoratten festgestellte Rarefizierung der Kernzahl der äußeren Körnerschicht wird von uns im Sinne eines chronischen Lichtschadens gedeutet, bei den 86 Wochen alten albinotischen Tieren dürften sich Einflüsse des Lichtes und des Alters überlagern.

Bei den Haubenratten liegt möglicherweise für die zentralen Retinaabschnitte ein gewisser Lichteinfluß vor, während die Abnahme der Kernzahl der äußeren Körnerschicht in der Retinaperipherie wohl überwiegend als altersbedingt anzusehen ist. Die Rarefizierung der Kernzahl der inneren Körnerschicht möchten wir bei beiden Tierstämmen als altersbedingt ansehen.

5. Zusammenfassung

An insgesamt 304 Ratten (150 m, 154 f) wird der zeitliche Ablauf des retinalen Lichtschadens und dessen pathomorphologisches Bild untersucht. Fernerhin werden die alterbedingten Veränderungen, wie sie sich bei geringer Dauerbeleuchtung darbieten, beschrieben. Es wird der Frage nachgegangen, inwiefern sich die Reaktionsweise der Retinae zwischen Albinoratten und pigmentierten Ratten unterscheidet.
Im Lichtversuch (300 Lux Dauerbeleuchtung) wird an 143 Tieren (71 m, 72 f) an 6 Zeitpunkten unterschiedlich langer Lichtexposition der akute Netzhautschaden lichtmikroskopisch untersucht und in seinem zeitlichen Ablauf dargestellt.
Für den bis 78 Wochen dauernden Langzeitversuch, hier Altersversuch genannt, werden 161 Ratten (79 m, 82 f) auf die Einwirkung einer Dauerlichtexposition von 30 Lux hin überprüft.

Die Dauerbeleuchtung einer Stärke von 300 Lux verursacht bei allen Albinoratten eine totale Degeneration des I. retinalen Neurons, die in den zentralen Retinaabschnitten beginnt und sich nach peripher ausbreitet. Nach einer Versuchsdauer von 13 Wochen bzw. 26 Wochen ist bei 23 Tieren abschnittsweise ein Verlust des Pigmentepithels festzustellen. Die Bruchsche Membran ist mehrfach rupturiert, so daß neuronales Gewebe in die Aderhaut prolabiert. Hingegen sind bei den pigmentierten Ratten unter 300 Lux Dauerbeleuchtung keine lichtinduzierten Retinaschäden zu erkennen.

Das Geschlecht der Versuchstiere hat keinen Einfluß auf die festgestellten Netzhautveränderungen.

Im Altersversuch ergibt sich bei Albinoratten und pigmentierten Tieren eine Rarefizierung der Kernzahl der äußeren und inneren Körnerschicht. Die Netzhaut der beiden Tierstämme reagiert jedoch unterschiedlich. Neben der lichtmikroskopischen Diagnostik werden an jeweils einem Auge von 80 Tieren unter konstanten meßgeometrischen Bedingungen Kernzählungen der äußeren und inneren Körnerschicht an zentralen und peripheren Netzhautabschnitten vorgenommen. Das Ergebnis wird für jeden gemessenen biologischen Parameter einer univariaten 3-Wege-Varianzanalyse unterzogen. Die Mittelwertsdifferenz wird für die einzelnen Altersgruppen mit dem Newman-Keuls-Test überprüft. Für beide Retinaabschnitte zeigen hierbei die Albinoratten eine frühere und stärkere Rarefizierung der Kerne der äußeren Körnerschicht als die pigmentierten Tiere.
Für die innere Körnerschicht sind verwertbare Stammesunterschiede und Geschlechtsunterschiede nicht zu errechnen. Auch hier ist jedoch bei beiden Tierstämmen eine Rarefizierung der Kernzahl in den zentralen und peripheren Retinaabschnitten festzustellen.

Das Untersuchungsergebnis wird anhand der Literatur diskutiert, wobei im Altersversuch bei den Albinoratten neben dem Alterseinfluß auf eine zusätzliche Lichtwirkung im Sinne eines Summationseffektes kleiner Lichtdosen über die lange Versuchsdauer geschlossen wird.

6. Tabellen der statistischen Analysen

	Vergleich der Kernzahl			
	äußere Körnerschicht		innere Körnerschicht	
	zentral	peripher	zentral	peripher
Stamm			**	n.s.
Geschlecht	n.s.	n.s.	n.s.	*
Alter			***	***
Stamm X Geschlecht	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Stamm X Alter	**	***	n.s.	n.s.
Geschlecht X Alter	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

Tabelle 3:

Statistische Analyse von 80 Augen des Altersversuchs
30 Lux Dauerbeleuchtung

Lebensalter		21 Wochen	34 Wochen	60 Wochen
34 Wochen	zentrale Retina	n.s.		
	periphere Retina	n.s.		
60 Wochen	zentrale Retina	***	***	
	periphere Retina	***	***	
86 Wochen	zentrale Retina	***	***	*
	periphere Retina	***	***	n.s.

Tabelle 4:

Äußere Körnerschicht - Albinoratten
Vergleich der Kernzahlen innerhalb der Altersgruppen
Signifikanzberechnung mit dem Newman-Keuls-Test

Lebensalter		21 Wochen	34 Wochen	60 Wochen
34 Wochen	zentrale Retina	n.s.		
	periphere Retina	n.s.		
60 Wochen	zentrale Retina	n.s.	n.s.	
	periphere Retina	n.s.	n.s.	
86 Wochen	zentrale Retina	***	***	***
	periphere Retina	*	*	(*)

Tabelle 5:

Äußere Körnerschicht - Haubenratten
Vergleich der Kernzahlen innerhalb der Altersgruppen
Signifikanzberechnung mit dem Newman-Keuls-Test

Lebensalter	21 Wochen	34 Wochen	60 Wochen
34 Wochen zentrale Retina	(*)		
34 Wochen periphere Retina	n.s.		
60 Wochen zentrale Retina	*	n.s.	
60 Wochen periphere Retina	n.s.	(*)	
86 Wochen zentrale Retina	***	n.s.	n.s.
86 Wochen periphere Retina	(*)	*	n.s.

Tabelle 6:

Innere Körnerschicht - Albinoratten
Vergleich der Kernzahlen innerhalb der Altersgruppen
Signifikanzberechnung mit dem Newman-Keuls-Test

Lebensalter	21 Wochen	34 Wochen	60 Wochen
34 Wochen zentrale Retina	*		
34 Wochen periphere Retina	n.s.		
60 Wochen zentrale Retina	*	n.s.	
60 Wochen periphere Retina	n.s.	n.s.	
86 Wochen zentrale Retina	***	n.s.	n.s.
86 Wochen periphere Retina	*	*	*

Tabelle 7:

Innere Körnerschicht - Haubenratten
Vergleich der Kernzahlen innerhalb der Altersgruppen
Signifikanzberechnung mit dem Newman-Keuls-Test

Stamm		Lebensalter in Wochen			
Albinoratten		21	34	60	86
äußere Körnerschicht	zentral	100 %	94 %	75 %	64 %
	peripher	100 %	100 %	53 %	44 %
innere Körnerschicht	zentral	100 %	88 %	83 %	73 %
	peripher	100 %	100 %	90 %	82 %
Haubenratten					
äußere Körnerschicht	zentral	100 %	91 %	92 %	73 %
	peripher	100 %	100 %	95 %	78 %
innere Körnerschicht	zentral	100 %	84 %	87 %	75 %
	peripher	100 %	98 %	98 %	80 %

Tabelle 8:
Reduktion der Kernzahl pro Rasterbreite in Abhängigkeit vom Lebensalter
Angaben in Prozent, bezogen auf 21 Wochen alte Tiere (= 100 %)

Kernzahl pro Raster		Lebensalter in Wochen 21	34	60	86
zentrale Retina	$\bar{x}$	134,70	126,80	100,60	85,80
	SD	9,55	14,12	14,90	14,07
periph. Retina	$\bar{x}$	60,70	64,90	31,90	26,70
	SD	11,66	9,48	14,81	12,06

Tabelle 9:
Kernzahlen der äußeren Körnerschicht bei Albinoratten
Angaben der Mittelwerte und Standardabweichungen

Kernzahl pro Raster		Lebensalter in Wochen 21	34	60	86
zentrale Retina	$\bar{x}$	131,30	119,20	120,80	96,30
	SD	16,84	11,46	13,93	10,50
periph. Retina	$\bar{x}$	58,20	60,00	55,50	45,60
	SD	7,50	8,86	12,75	9,77

Tabelle 10:
Kernzahlen der äußeren Körnerschicht bei Haubenratten
Angaben der Mittelwerte und Standardabweichungen

Kernzahl pro Raster		Lebensalter in Wochen 21	34	60	86
zentrale Retina	$\bar{x}$	32,00	28,0o	26,40	23,40
	SD	6,11	3,56	2,72	2,88
periph. Retina	$\bar{x}$	13,20	14,10	11,90	10,80
	SD	2,49	1,29	3,41	1,32

Tabelle 11:
Kernzahlen der inneren Körnerschicht bei Albinoratten
Angaben der Mittelwerte und Standardabweichungen

Kernzahl pro Raster		Lebensalter in Wochen 21	34	60	86
zentrale Retina	$\bar{x}$	35,40	29,60	30,90	26,70
	SD	5,58	5,66	3,67	4,60
periph. Retina	$\bar{x}$	13,80	13,50	13,60	11,00
	SD	2,66	1,84	3,10	1,63

Tabelle 12:
Kernzahlen der inneren Körnerschicht bei Haubenratten
Angaben der Mittelwerte und Standardabweichungen

7. Literaturverzeichnis:

1. ANDERSON, K.V., COYLE, F.P., O'STEEN, W.K.
   Retinal degeneration produced by low-intensity colored light.
   Exp. Neurol. 35 (1972), 233 - 238

2. BALLOWITZ, L. und DÄMMRICH, K.
   Retinaschäden bei Ratten nach einer Fototherapie.
   Z. Kinderheilk. 113 (1972), 42 - 53

3. BIRCH, D. und JACOBS, G.H.
   Effects of constant illumination on vision in the albino rat.
   Physiol. Behav. 19 (1977), 255 - 259

4. CICERONE, C.M.
   Cones survive rods in the light-damaged eye of the albino rat.
   Science 194 (1976), 1183 - 1185

5. COERS, M.
   Vergleichende Untersuchungen an Augen von pigmentierten und albinotischen Laborratten.
   Inaug. Diss. Hannover 1983

6. CROUCH, R.K.
   In vitro effects of light on the regeneration of rhodopsin. In: "The effects of constant light on visual processes". Edited by Williams, T.P. and Baker, B.N.
   Plenum Press New York and London 1980, S. 309 - 318

7. CZERNY, V.
   Über die Blendung der Netzhaut durch Sonnenlicht.
   Sitzungsber. Akad. Wiss. Wien, Math. Naturwiss. Kl. 56 (1867), 409 - 428

8. DELMELLE, M.
   Possible implication of photooxidation reactions in retinal photo-damage.
   Photochem. Photobiol. 29 (1979), 713 - 716

9. FRIEDMAN, E. und KUWABARA, T.
   The retinal pigment epithelium IV. The damaging effect of radiant energy.
   Arch. Ophthalmol. 80 (1968), 265 - 280

10. GORN, R.A. und KUWABARA, T.
    Retinal damage by visible light.
    Arch. Ophthalmol. 77 (1967), 115 - 119

11. GRIGNOLO, A., ORZALESI, N., CASTELLAZO, R. und VITTONE, P.
Retinal damage by visible ligt in albino rats.
Ophthalmologica, 157 (1969), 43 - 59

12. HANSSON, H.-A.
Ultrastructural studies on rat retina damaged by visible light.
Virchows Arch. Zellpathol. 6 (1970), 247 - 262

13. HALL, M.O.
Phagocytosis of light and dark adapted rod outer segments by cultured pigment epithelium.
Science , 202 (1978), 526 - 528

14. HAYASAKA, S. und LAI, Y.-L.
Effect of continuous low-intensity light on the lysosomal enzymes in the retina of albino rats.
Exp. Eye Res. 29 (1979), 123 - 129

15. HOCHHEIMER, B.F., D'ANNA, S.A. und CALKINS, J.L.
Retinal damage from light.
Am. J. Ophthalmol. 88 (1979), 1039 - 1044

16. KUWABARA, T. und GORN, R.A.
Retinal damage by visible light.
Arch. Ophthalmol., 79 (1968), 64 - 78

17. KUWABARA, T.
Retinal recovery from exposure to light.
Am. J. Ophthalmol., 70 (1970), 187 - 198

18. KUWABARA, T. und FUNAHASHI, M.
Light damage in the developing rat retina.
Arch. Ophthalmol., 94 (1976), 1369 - 1374

19. LAI, Y.-L., JACOBY, R.O. und JONAS, A.M.
Age-related and light-associated retinal changes in Fischer rats.
Invest. Ophthalmol., 17 (1978), 634 - 638

20. LAUBER; J.K., SHUTZE, J.V. und MC GINNIS, J.
Effects of exposure to continuous light on the eye of the growing chick.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 106 (1961), 871 - 872

21. LAVAIL, M.M., PINTO. L.H. und YASUMURA, D.
The interphotoreceptor matrix in rats with inherited retinal dystrophy.
Invest. Ophthalmol., 21 (5), (1978), 658 - 668

22. LAVAIL, M.M.
Eye pigmentation and constant light damage in the rat retina. In: "The effects of constant light on visual processes". Edited by Williams, T.P. and Baker, B.N. Plenum Press New York and London 1980, S. 357 - 387

23. LÜCKE, A. und REME, CH.
Lichtschäden in der Netzhaut - Zusammenfassung experimenteller und klinischer Ergebnisse
Klin. Monatsbl. Augenheilkd. 184 (1984), 77 - 83

24. MERTE, H.J.
Normale Anatomie des Sehorgans der Ratte - Netzhaut. In: "Pathologie der Laboratoriumstiere", Band 1, herausgegeben von Cohrs, P., Jaffe, R. und Meesen, H. Springer Verlag 1958, S. 628 - 631

25. NOELL, W.K., WALKER, V.S., KANG, B.S. und BERMAN, S.
Retinal damage by light in rats.
Invest. Ophthalmol. 5 (1966), 450 - 473

26. NOELL, W.K. und ALBRECHT, R.
Irreversible effects of visible light on the retina - role of vitamin A.
Science 172 (1971), 76 - 80

27. NOELL, W.K.
Possible mechanisms of photoreceptor damage by light in mammalian eyes.
Vision Res. 20 (1980), 1163 - 1171

28. NOELL, W.K.
There are different kinds of retinal light damage in the rat. In: "The effects of constant light on visual prosesses". Edited by Williams, T.P. and Baker, B.N. Plenum Press New York and London 1980, S. 3 - 28

29. O'STEEN, W.K., SHEAR, CH.R. und ANDERSON, K.V.
Retinal damage after prolonged exposure to visible light. A light and electron microscopic study.
Am. J. Anat. 134 (1974), 5 - 22

30. O'STEEN, W.K. und KARCIOGLU, Z.A.
Phagocytosis in the light damaged albino rat eye: Light and electron microscopic study.
Am. J. Anat. 139 (1974), 503 - 518

31. PARNAVELAS, J.G. und GLOBUS, A.
The damaging effect of continuous illumination on the morphology of the retina of the rat.
Exp. Neurol. 51 (1976), 171 - 187

32. PARNAVELAS, J.G.
The electroretinogramm of rats reared in continuous illumination.
Exp. Neurol. 51 (1976), 648 - 652

33. RAPP, L.M. und WILLIAMS, T.P.
The role of ocular pigmentation in protecting against retinal light damage.
Vision Res. 20 (1980), 1125 - 1131

34. RAPP, L.M. und WILLIAMS, T.P.
A parametric study of retinal light-damage in albino and pigmented rats. In: "The effects of constant light in visual processes". Edited by Williams, T.P. and Baker, B.N.
Plenum Press New York and London 1980, S. 135 - 159

35. SEITZ, R., WEISSE, I. und STÖTZER, H.
Altersbedingte und lichtabhängige Netzhautveränderungen. Eine vergleichende Untersuchung am Rattenauge.
Klin. Monatsbl. Augenheilkd. 171 (3), 1977, 431 - 442

36. SISSON, T.R.C., GLAUSER, S.C., GLAUSER, E.M. TASMAN, W. und KUWABARA, T.
Retinal changes produced by phototherapy.
J. Pediatr. 77 (1970), 221 - 227

37. STÖTZER, H., WEISSE, I., KNAPPEN, F. und SEITZ, R.
Die Retinadegeneration der Ratte.
Ihre Abhängigkeit von Beleuchtungsstärke und Vitamin A im Futter.
Arzneimittelforsch., 20 (1970), 811 - 817

38. TSO, M.O.M.
Photic maculapathy in rhesus monkey. A light and electron microscopic study.
Invest. Ophthalmol. 12 (1973), 17 - 34

39. WALZER, P., ENGELEN, S., STELLINGER, L., SCHMIDT, J.G.H. und HEIMANN, K.
Lichtschäden der Retina bei Wistar-Ratten.
Klin. Monatsbl. Augenheilkd. 164 (1974), 233

40. WEISSE, I., STÖTZER, H. und SEITZ, R.
Age- and light-dependent changes in the rat eye.
Virchows Arch. Pathol. Anat., 362 (1974), 145 - 156

41. WIDMARK, J.
Über die Blendung der Netzhaut.
Skand. Arch. Physiol. 4 (1893), 281 - 295

LEBENSLAUF

Am 2. August 1941 wurde ich, Hubert Strunck, als erstes Kind des Geschäftsführers Heinrich Strunck und seiner Ehefrau Therese, geb. Franko, in Bad Kreuznach geboren. Meine Eltern wohnten damals in Langenlonsheim/Kreis Kreuznach. Die Volksschule Langenlonsheim besuchte ich vom Herbst 1947 bis Ostern 1951. Danach wurde ich Schüler des Staatlichen Gymnasiums Bad Kreuznach, wo ich im Frühjahr 1960 die Reifeprüfung ablegte.
Vom April 1960 bis Ende März 1962 leistete ich meinen Wehrdienst.
Zum Sommersemester 1962 nahm ich das Medizinstudium an der Johannes Gutenberg-Universität Mainz auf. Nach dem Sommersemester 1963 legte ich das Vorphysikum ab, das Physikum bestand ich nach dem Sommersemester 1964. Auch das Studium der klinischen Semester erfolgte an der Johannes Gutenberg-Universität Mainz, wo ich nach dem Sommersemester 1967 die ärzliche Prüfung bestand.
Als Medizinalassistent arbeitete ich vom März 1968 bis Februar 1970 am klinischen Sanatorium der LVA Bad Münster/Stein und am Hl. Geist-Hospital Bingen. Nach der Approbation als Arzt war ich als Assistenzarzt bis Ende März 1971 am LVA-Sanatorium Bad Münster/Stein danach bis zum 31.12.1978 an der chirurgischen Abteilung des St. Hildegardis-Krankenhauses Mainz tätig. Die Anerkennung als Chirurg erhielt ich 1980. Seit dem 1.1.1979 arbeite ich als Werksarzt bei Boehringer Ingelheim.
Seit dem 22.09.1973 bin ich mit Gertrud Maria Hattemer verheiratet. Wir haben ein Kind.